HPLC · SMB · Osmometry

KNAUER

Smartline Autosampler 3900
Manual / Handbuch

V 1508 03/2007

Smartline

Wissenschaftliche Gerätebau
Dr. Ing. Herbert Knauer GmbH
Hegauer Weg 38
D - 14163 Berlin, Germany
Tel.: +49 (0)30 809 727 0
Fax.: +49 (0)30 801 50 10
E-Mail: info@knauer.net
Internet: www.knauer.net

CONTENTS

Using this Manual **5**
Conventions in this Manual 5

Quick Start AS 3900 **5**

Programming Chart **10**

About AS 3900 **11**

Instrument Description **13**

Injection Principle **14**
Full loop injections 15
Partial loop fill injections 16
µl Pick-up injections 18

Installation **20**
Unpacking 20
Location of AS 3900 21
Power connections 21
Fluid connections 22
HPLC connections 23
Waste tubing 23
Wash solvent and System rinse 23
Syringe 24
Preparation of vials 24
Vial dimensions 24
Filling and sealing the vials 26
Loading the sample tray 27
Control I/O connections. 27
Contact closure output connector (P1): 27
TTL input connector (P2): 27
Multi Link Connector 29

Operation **30**
Typographic convention 30
How to use the keyboard 30
Hard function keys 31
Direct functions 31
Direct Control functions: 32
<WASH> 32
System Settings 34
General System Settings 35
Method System Settings 36
Tray Settings 36
I/O configuration 37
Serial Communication 37
Prep Mode System Settings 37
Method programming 38
Injection program 38
Wash program 39
Timed events program 40
Mix program 42
Programming the Run sequence; Series 43
Running 45
Start and Stop 45
Remote control 45
Priority sample 46
Programming during Run 47

Maintenance **47**
Injection valve 47
Replacing the injection valve 47
Valco Cheminert® Module C2 Valve 48
Operating Instructions for Rheodyne Model 7739 Valve 49
Operating Instructions for Rheodyne Model 9740 Valve 50
Needle and tubing 52
Sample needle 54
Air needle replacement 55
Sample needle penetration depth 55
Syringe 55

Troubleshooting **57**
Start up problems 57
Analytical problems 58
Quick check! 58
No injection 59
Bad reproducibility 60

APPENDIX A: List of Accessories **61**

APPENDIX B: Error Codes **63**

APPENDIX C: Test Procedure **65**

APPENDIX D: AS 3900, Preparative **73**
Specifications AS 3900, prep 73
Installation AS 3900, prep 74
Injecting with the AS 3900, prep 75
Firmware replacement 75

Technical Data **77**

Declaration of conformity **152**

Guarantee statement **153**

INDEX **154**

INHALT

Hinweise zum Gebrauch des Handbuchs **78**
Konventionen in diesem Handbuch 78

Schnellstart des AS 3900 **79**

Programmübersicht **84**

AS 3900, allgemeine Beschreibung **85**

Instrumentbeschreibung **87**

Injektionsprinzip **88**
Vollschleifeninjektion 89
Partielle Schleifenfüllung 91
µl Pick-up Injektionen 92

Installation **94**
Auspacken 94
Aufstellung des AS 3900 95
Netzanschluss 95
Kapillar- und Schlauchanschlüsse 96
HPLC Kapillaranschlüsse 97
Abfallleitungen 97
Waschlösung und Systemspülung 97
Spritze 98
Vorbereitung der Vials 98
Vialdimensionen 98
Füllen und Verschließen der Vials 100
Beschickung des Probentellers 101
Steueranschlüsse I/O 101
Kurzschlussausgangsanschluss (P1): 101
TTL Eingangsanschluss (P2) 101
Multi Link Anschlüsse 103

Betrieb **104**
Typographische Festlegungen 104
Benutzung der Tastatur 104
Feste Funktionstasten 105
Direktfunktionen 105
Direkte Steuerfunktionen: 106
Systemeinstellungen 108
Allgemeine Einstellungen 109
Methodeneinstellungen 110
Probentellereinstellungen 110
I/O Konfiguration 111
Serielle Kommunikation 111
Prep-Modus Einstellungen 111
Methodenprogrammierung 112
Injektionsprogramm 113
Waschprogramm 114
Ereignisprogramm (Timed events program) 114
Mischprogramm 116
Programmierung der Runsequenz; Serie 117
Betrieb 119
Start und Stopp 119
Fernsteuerung 120
Probenpriorität 120
Programmierung während des Laufs 121

Wartung **121**
Injektionsventil 121
Austausch des Injektionsventils 121
Valco Cheminert® Module C2 Ventil 122
Bedienungsanleitung für das Rheodyne Ventil Modell 7739 123
Bedienungsanleitung für das Rheodyne Ventil 9740 125
Nadel und Schlauchverbindung 126
Probennadel 128
Luftnadelaustausch 129
Eindringtiefe der Probennadel 129
Spritzenwechsel 129

Troubleshooting **131**
Startprobleme 131
Analytische Probleme 132
Schnelltest 132
Keine Injektion 133
Schlechte Reproduzierbarkeit 134

ANHANG A: Zubehör **135**

ANHANG B: Fehlermeldungen **137**

ANHANG C: Test Prozeduren **139**

ANHANG D: AS 3900, Prep **147**
Spezifikationen des AS 3900, prep 147
Installation des AS 3900, prep 148
Injektionen mit dem AS 3900, prep 148
Firmwareaustausch 149

Technische Daten **151**

Gewährleistungsbedingungen **152**

Konformitätserklärung **153**

INDEX **156**

Using this Manual

Conventions in this Manual

Special Warnings are indicated by the marginal warning sign and printed in bold letters.

The marginal lamp symbol indicates **helpful advice**.

Important Hints are marked by the marginal hand symbol.

⇧ ⇨ ⇩ ⇨ Arrows in an outlined form like this example used in block diagrams indicate an automatic program run and change to the next line without the necessity of manual interventions.

→ ↑ ← ↓ Arrows like this, used in block diagrams, indicate that the user is asked to press the corresponding arrow keys

➢ ➢ ➢ ➢ The triangles symbolize the use of corresponding arrow keys.

Quick Start AS 3900

This section of the manual is written, to make a quick start with your autosampler AS 3900. Step by step from installation through running complete analysis. It makes AS 3900 your companion in the lab in a minimum of time.

Installation

(For more detailed information, See page 20 of this manual)

- Allow the AS 3900 to adopt ambient temperature for at least one hour
- Check AS 3900 for visual damages due to transport, if this is the case, please contact your distributor immediately.
- Remove the safety screw on the right-hand side of the front cover.

Keep the keyboard front cover closed during operation.

- Check fuses and voltage settings on the rear side of the instrument.
- Connect the power cable

- After turning "ON" the power, the Ready screen appears displaying the firmware revision number.
- Connect the drain tubing to the wash outlet on the lower front side of the instrument.
- Fill the wash solvent bottle with distilled water/ 2-Propanol (80/20 v/v%) or mobile phase. Only water/organic solvents should be used. Do not use any crystalline or buffer solutions; these may block the system and cause severe damages. To avoid air bubbles in the syringe degas the wash solvent.
- Fill the wash solvent tubing, syringe and buffer tubing by washing the system 2 or 3 times. This is done by pressing the <WASH> soft function key from the Ready screen. Check if there are some air bubbles trapped in the syringe, they can be removed by gently ticking to the syringe.
- Connect your HPLC pump to port 1 of the injection valve and the column (or capillary) to port 6 of the injection valve. Check for leakage and let the system equilibrate for at least 5 minutes.

System settings (See page 34 of this manual)

Normally these settings are correctly installed, to check and set these (standard) settings, proceed as follows:

Press keys:	Description:
[System]	Enter the System Settings
<GENERAL>	Enter the General Settings
[0100] [Enter]	Volume of installed loop: 100 µl.
[015] [Enter]	Volume of tubing needle ↔ valve:015 µl
<250> [Enter]	Syringe volume: 250 µl
<NORMAL> [Enter]	Set Syringe speed to Normal.
<YES> [Enter]	Skip missing vials.
<YES> [Enter]	Air segment: use air segment
<YES> [Enter]	Headspace pressure: On

Press **[Escape]** twice to go back to the Ready screen

Example 1: Performing a 10 µl partial loop fill injection from vial number 1.

Performing injection routines is easy with AS 3900. First you define a method such as the injection, mix or wash method. These methods are stored in battery back up. Subsequently a Run sequence or Series can be programmed in which those methods are linked to the Series of vials. AS 3900 will eventually execute those Series.

Programming the method (See page 38 of this manual)

Injection Program:

Press keys:	Description:
[Methods] [1] [Enter]	Enter Method number 1.
<INJECTION> <PARTIAL> [Enter]	Selecting partial loop fill injection program
[30] [Enter]	Flush volume: e.g. 30 µl
[1] [Enter]	Number of injections per vial: 1
[10] [Enter]	Injection volume: 10 µl
[100] [Enter]	Enter the analysis time e.g. 1 minute

Press **[Escape]** once to go up one level.

Wash Program:

Press keys:	Description:
<WASH>	Selecting wash program
<NONE>	Disable the wash

Press **[Escape]** three times to go back to the Ready screen.

Programming the Series (See page 43 of this manual)

Press keys:	Description:
[Series] [1] [Enter]	Enter Series number 1.
[1] [Enter]	Enter Method number:1
[1] [Enter]	Enter First sample vial: 01
[1] [Enter]	Enter Last sample vial: 01

Press **[Escape]** (twice) to go back to the Ready screen

Running the Series (See page 45 of this manual)

Put a sample vial in position 1. (If you can't reach position 1, turn the tray manually).

Press keys:	Description:
[Start/Stop]	
[1] [Enter]	Start at Series number:1
[1] [Enter]	Stop after Series number: 01

If you press **<START>** AS 3900 will start searching for vial 1 and perform a 10 µl injection.

EXAMPLE 2: Performing three 10 µl injections from one vial without sample loss using the µl Pick-up injection routine, followed by a wash routine between each injection.

If the Air segment is set ON in System Settings, a small air segment will also be injected into your HPLC system (For more detailed information, See page 45 of this manual).

For switching OFF the air segment enter the System Settings and change the setting for the air segment: from ***YES*** to ***NO***.
This is done by pressing
[System] <GENERAL> [Enter] [Enter] [Enter] [Enter] [Enter] <NO> [Escape] [Escape]

Programming the method (See page 38 of this manual)

Injection program:

Press keys:	Description:
[Methods] [1] [Enter]	Enter Method number 1.
<INJECTION> <PICK UP> [Enter]	Selecting µl pick-up injection program
[3] [Enter]	Number of injections per vial: 3
[10] [Enter]	Injection volume: 10 µl
[100] [Enter]	Enter the analysis time e.g. 1 minute

Press **[Escape]** once to go up one level.

Wash Program:

Press keys:	Description:
<WASH>	Selecting wash program
<INJECTION> [ENTER}	Perform a wash after each injection
[1] [Enter]	Enter the number of syringe volumes to be used for washing, e.g. 1 syringe volume.

Press **[Escape]** three times to go back to the Ready screen.

Programming the Series (See page 43 of this manual)

Press keys:	Description:
[Series] [1] [Enter]	Enter Series number 1.

Press keys:	Description:
[1] [Enter]	Enter Method number:1
[1] [Enter]	Enter First sample vial: 01
[1] [Enter]	Enter Last sample vial: 01

Press **[Escape]** (twice) to go back to the Ready screen

Running the Series (See page 45 of this manual)

Put a sample vial in position 1 and a vial with transport solvent (mobile phase) in position 85.

Be sure the transport vial is filled correctly before starting a new Series.

Press keys:	Description:
[Start/Stop]	
[1] [Enter]	Start at Series number:1
[1] [Enter]	Stop after Series number: 1

If you press **<START>** AS 3900 will start searching for the transport vial and perform 3 injections of 10 µl. After every injection the needle system will be washed with 1 syringe volume.

EXAMPLE 3: Performing a 1:10 dilution followed by a 10 µl partial loop fill injection

The mix method will perform the following:

Transfer 360 µl from Reagent A to the destination vial, add 40 µl sample, mix 3 times with 250 µl and subsequently inject 10 µl.

From the Ready screen:

Programming the method (See page 38 of this manual)

Injection Program:

Press keys:	Description:
[Methods] [1] [Enter]	Enter Method number 1.
<INJECTION> <PARTIAL> [Enter]	Selecting partial loop fill injection program
[30] [Enter]	Flush volume: e.g. 30 µl
[1] [Enter]	Number of injections per vial: 1
[10] [Enter]	Injection volume: 10 µl
[100] [Enter]	Enter the analysis time e.g. 1 minute

Press **[Escape]** once to go up one level.

Wash Program:

Press keys:	Description:
<WASH>	Selecting Wash program
<NONE>	Disable the wash

Press **[Escape]** once to go up one level.

Mix Program: (See page 42 of this manual)

Press keys:	Description:
<MIX>	Selecting Mix program
<YES>	Confirm the use of the Mix program
<INSERT>	Insert the first Mix step:
<ADD> [180] [Enter]	Add 180 µl Reagent–A to the Destination
<REAG-A> [Enter]	vial.
<DESTINATION> [Enter]	
<INSERT>	Insert the second Mix step:

Press keys:	Description:
<ADD> [180] [Enter]	Add another 180 µl Reagent–A to the
<REAG-A> [Enter]	Destination vial.
<DESTINATION> [Enter]	
<INSERT>	Insert the third Mix step:
<ADD> [40] [Enter]	Add 40 µl from the Sample vial to the
<SAMPLE>[Enter]	Destination vial.
<DESTINATION> [Enter]	
<INSERT>	Insert the fourth Mix step:
<MIX> [3] [Enter]	Mix the contents of the Destination vial 3
[250] [Enter]	times with a volume of 250 µl

Press **[Escape]** three times to go back to the Ready screen

Programming the Series (See page 43 of this manual**)**

Press keys:	Description:
[Series] [1] [Enter]	Enter Series number 1.
[1] [Enter]	Enter Method number:1
[1] [Enter]	Enter First sample vial: 01
[1] [Enter]	Enter Last sample vial: 01
[2] [Enter]	Enter First destination vial: 02

Press **[Escape]** (twice) to go back to the Ready screen

Running the Series (See page 45 of this manual**)**

Put a sample vial in position 1, an empty sealed destination vial in position 2 and a filled reagent vial in position 86. Be sure the reagent vial is filled correctly before starting a new Series. (If you can't reach one of the tray positions, turn the tray manually).

Press keys:	Description:
[Start/Stop]	
[1] [Enter]	Start at Series number:1
[1] [Enter]	Stop after Series number: 1

If you press **<START>** AS 3900 will start searching for vial 86 and transport 180 µl to the destination vial twice, subsequently 40 µl of sample will be added and after mixing 3 times a 10 µl injection will be performed.

Programming Chart

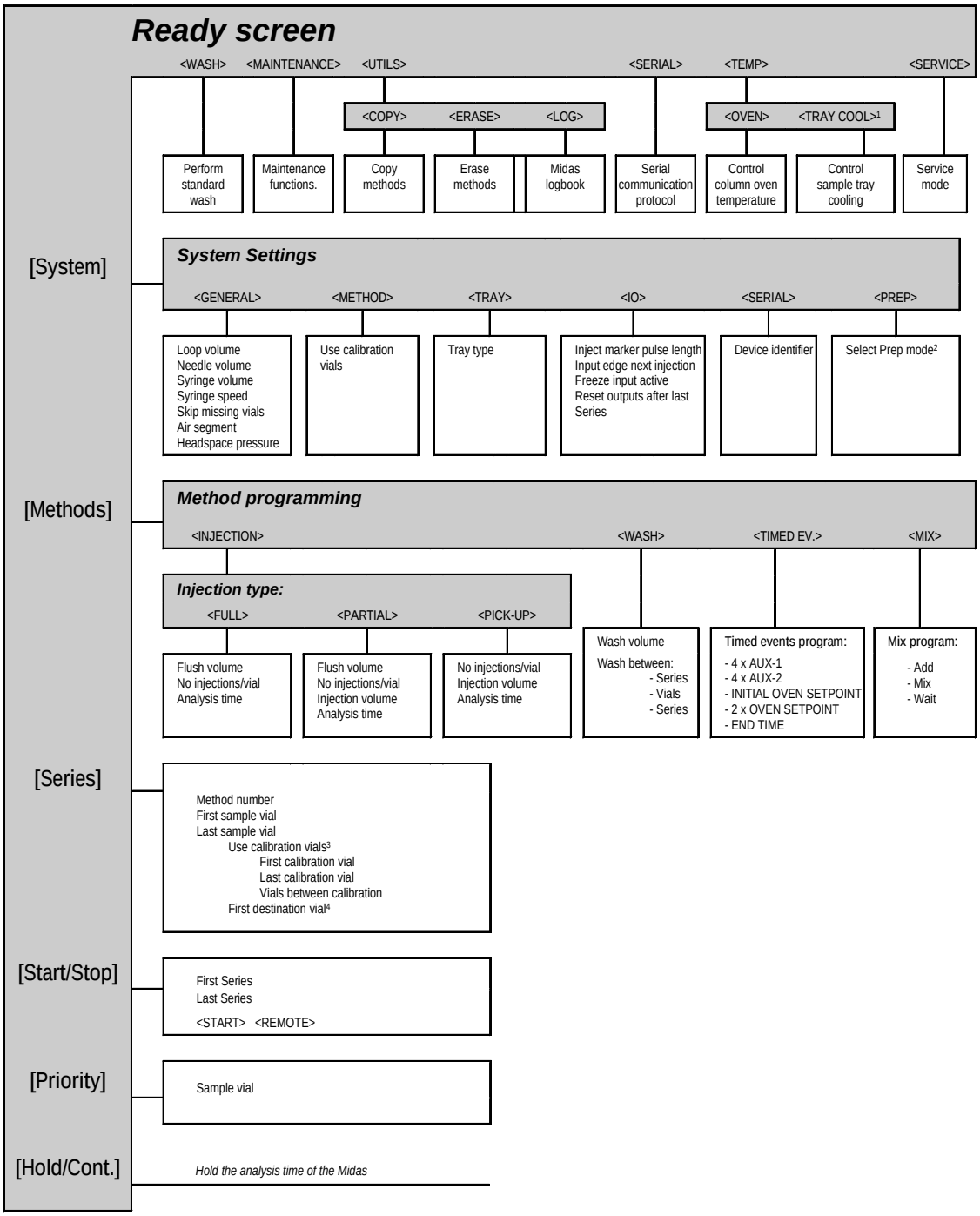


Fig. 1 Programming chart

1. Available when the optional tray cooling is installed.
2. When selecting the Prep mode, some system settings are no longer programmable, but set to a fixed value.
3. Depends on the System Settings.
4. In case Destination vials are used in the mix of the method.

About AS 3900

AS 3900 has been designed to meet the challenge of the modern analytical laboratory: robust, cost-effective and easy to implement. Column temperature control and sample cooling are available for consistent results. High-resolution syringe control guarantees superior precision for injection and reagent addition. And, for quick service, the entire injection valve can be replaced in seconds! The use of these and many more features is described in this manual to help you exploit the full potential of AS 3900.

PASA™, a robust injection concept.

Loop injection with Pressure Assisted Sample Aspiration (PASA™) is a proven concept that combines high precision with simplicity and reliability. No moving around with the sample needle. Reduced risk for bubbles in the sample line. No needle port that wears and contaminates. There is only intelligent valve switching and highly accurate syringe control. Yet, three injection modes can be selected: full loop, partial loop filling and µl Pick-up for maximum precision, maximum flexibility and zero sample loss.

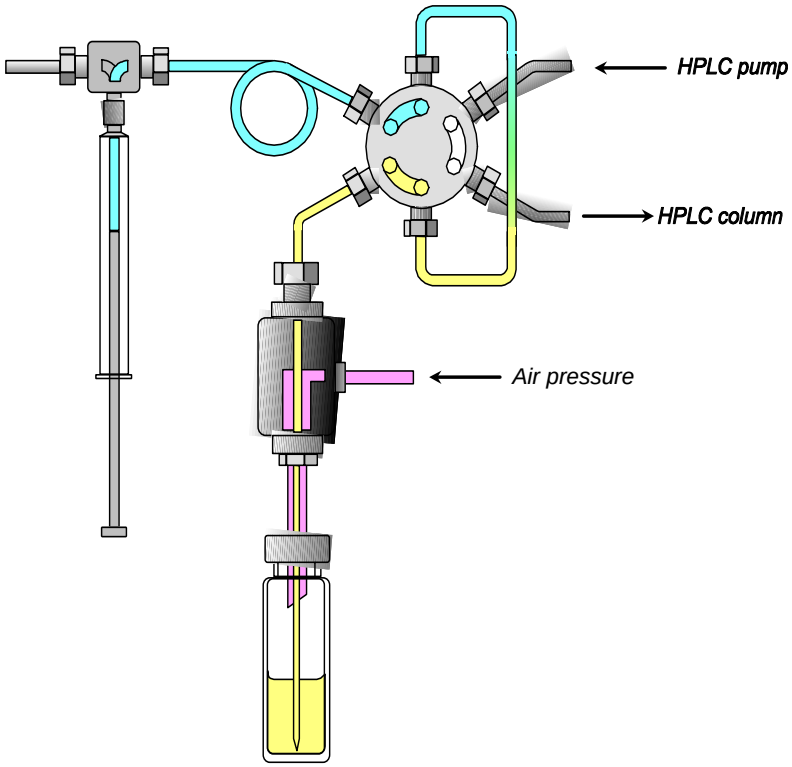


Fig. 2 The PASA™ injection concept.

Side-port needle: a good point!

The strong side-port needle combines the optimum point style for piercing with a minimum risk of blockage by septum particles. For small sample volumes, a spring-loaded needle is available for maximum sample aspiration independent of variations in vial dimensions.

Column oven for consistent results.

A column oven is an integral part of AS 3900, because constant column temperature is important for long term stability of a chromatographic separation and may be required by GLP directives.

Integrated sample cooling option.

Thermo-electric sample cooling is available as a fully integrated option. No external device is required and the efficient cooling concept does not restrict access to the sample tray during operation.

Reagent addition made simple.

Internal Standard addition, sample dilution or derivatization can be programmed in a very simple manner. A single-stage derivatization of a sample in a separate (destination) vial requires no more than 4 program lines. Multi-reagent addition is also possible: two large volume reagent vials are available on the sample tray.

PC-based control.

For communication with external computers, a serial interface and Smartline communication protocol are standard. A Microsoft® Windows™ based software package for AS 3900 control from a PC greatly improves operation and programming convenience and extends programming capabilities. A printout of all relevant system parameters is another valuable plus when using PC control. The Microsoft® Windows™ package will become available by the end of 1996.

Service friendly design.

Low instrument down time is accomplished by a high mean time between failure and quick instrument service. Special attention has been paid to these aspects of the concept, as is illustrated by the injection valve: AS 3900 will alert you in case the lifetime of the seal is exceeded or if the switching torque becomes too high. This allows preventive maintenance before injection performance degrades. And if necessary, the entire injection valve can be replaced in seconds with the unique Quick-fit valve mounting mechanism.

Instrument Description

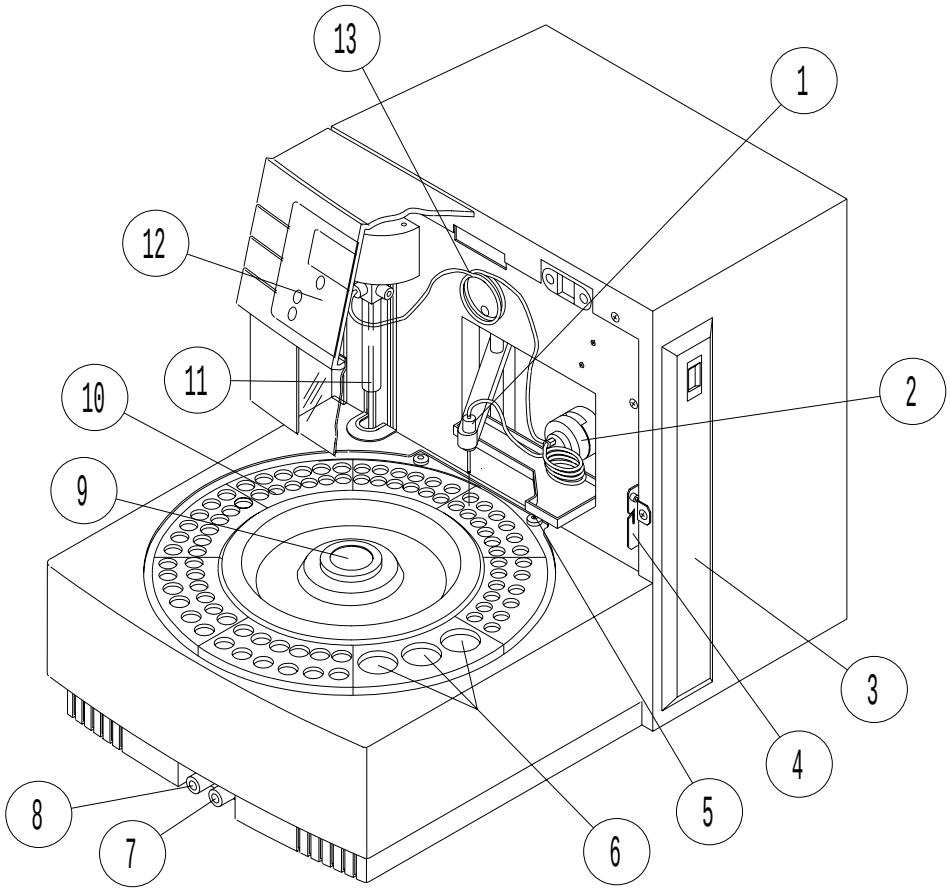
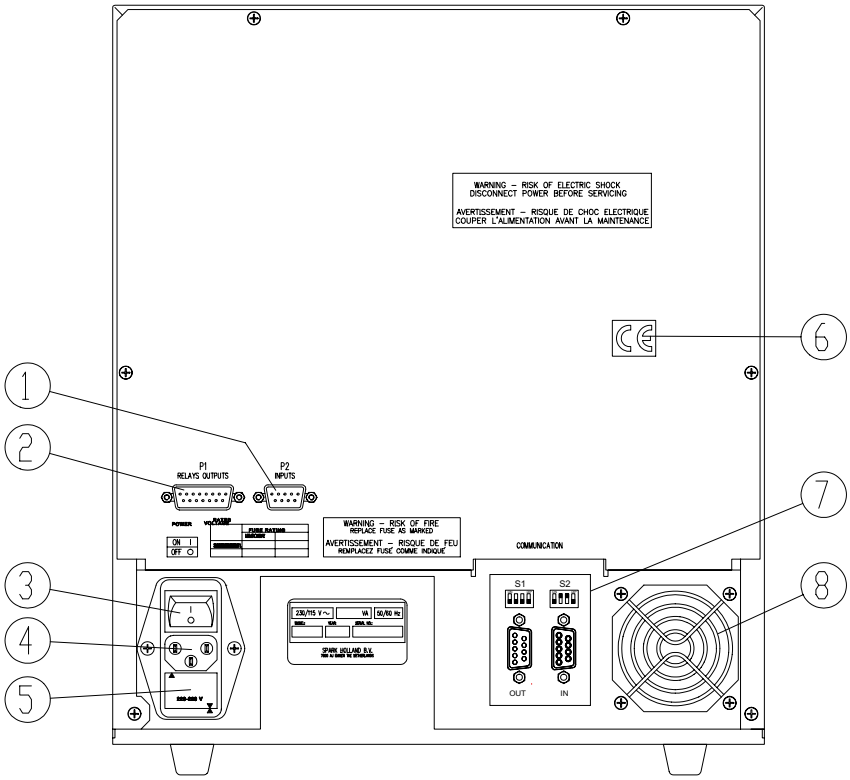


Fig. 3 autosampler AS 3900 exploded view.

1. Needle arm.
2. Injection valve.
3. Oven compartment.
4. Tubing guide.
5. Wash position.
6. Position for transport solvent and reagent vials.
7. Wash and waste drain.
8. Condensed water and leakage drain
9. Tray fixation knob.
10. Sample tray.
11. Syringe dispenser.
12. Keyboard.
13. Buffer tubing.

Placing the sample tray in the AS 3900:

- Place the sample tray in the AS 3900 and rotate it till sinks into the slot, only one position possible.
- Turn the tray fixation knob (9) clock-wise to fixate the tray.
- The AS 3900 is now ready for use.



1. P2- I/O connector; Inputs, see page 27.
2. P1- I/O connector; Relays outputs.
3. Mains switch.
4. Mains input.
5. Fuses and voltage selector.
6. CE-mark.
7. RS-232 communication interface connector.
8. Fan, only when tray-cooling option is installed.

Fig. 4 Rear side of the autosampler AS 3900.

Injection Principle

A unique sequence of valve switching and syringe dispenser controlled sample withdrawal enables the AS 3900 to inject sample volumes in a range from a few microliters to milliliters in a simple and reproducible manner.

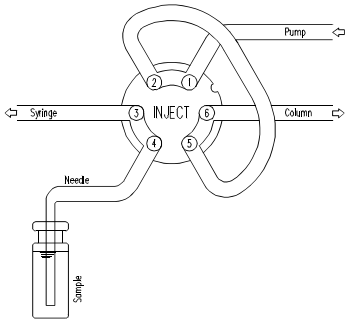
Therefore three different methods for injection can be selected:

- Full loop: The sample loop is completely (quantitatively) filled with sample resulting in extremely good reproducibility.
- Partial loop fill: The sample loop is partially filled with sample; low sample loss and programmable injection volumes.
- µl pick-up: After aspiration from the vial the sample volume is transported into the loop with transport liquid (mobile phase) from another vial; no sample loss.

The AS 3900 uses a syringe to aspirate the sample from a vial into the sample loop. To prevent contamination of the syringe the AS 3900 is equipped with a buffer tubing between the syringe and the injection valve. The wash solvent is used to remove the sample from the buffer tubing and sample needle and rinse the buffer tubing and sample needle.

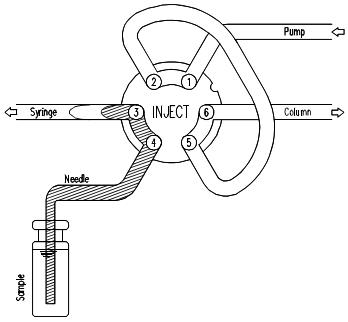
Full loop injections

The switching sequence for a full loop injection is schematically shown in the following figures:



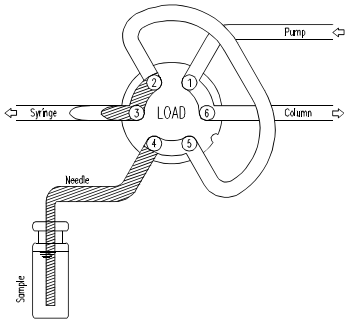
The Initial situation: the injection valve is in the **INJECT** position. The sample needle with air needle has entered the vial. The headspace pressure, applied through the outer air needle, ensures that no air or vapour bubbles are formed during sample aspiration.

Fig. 5 Full loop injection: initial situation.



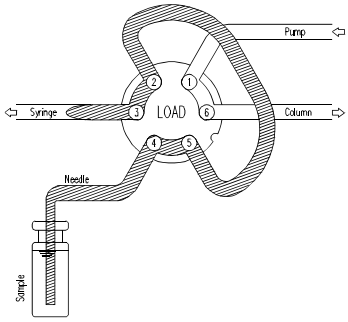
The syringe dispenser aspirates the “flush volume” from the sample vial to fill the sample line with sample and remove wash solvent.

Fig. 6 Full loop injection: flushing sample lines and needle.



The injection valve is switched into the **LOAD** position, placing a distinct sample front at the inlet of the sample loop.

Fig. 7 Full loop injection: switch injection valve to LOAD.



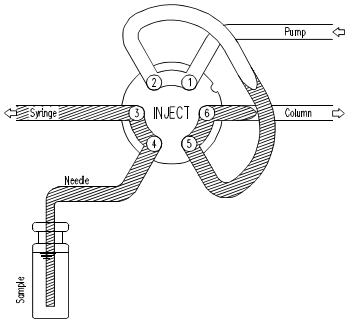
The sample loop is quantitatively filled by transporting a number of times the loop volume through the loop, depending on the volume of the loop.

3x loop volumes
for loops<= 100 µl

2x loop volumes
for loops from 100 µl to 500 µl

1½x loop volumes
for loops > 500 µl

Fig. 8 Full loop injection: filling the sample loop.



The injection valve switches into the **INJECT** position. The sample loop is now part of the HPLC mobile phase flow path: sample is transported to the column. The analysis starts.

Fig. 9 Full loop injection: injecting sample.

If one injection is to be made out of each vial or a wash routine has to be performed after every injection: the needle withdraws from the vial directly after the injection and, if programmed, directly performs a wash. After the analysis time a new sequence is started.

The next injection sequence will start with a flush of 50% of the programmed flush volume, in case an injection from the same vial and no wash routine is programmed. Otherwise it will start with a flush of the programmed flush volume. If the withdrawal of sample for the next injection will exceed the total volume of the sample buffer tubing, the buffer tubing is rinsed before the next injection. The next injection will start with the programmed flush.

Air segment

An air segment can be used to reduce the amount of flush volume. This air segment is at the front of the flush volume and will not be injected and therefore will not influence the injection. The air segment may be selected in the system settings (ON/OFF, See page 34).

With a standard needle the flush volumes must be minimal 30 µl for injections with air segment and 35 µl for injections without air segment. If the samples are highly viscous it may be necessary to program larger flush volumes and reduce the syringe speed for better performance.

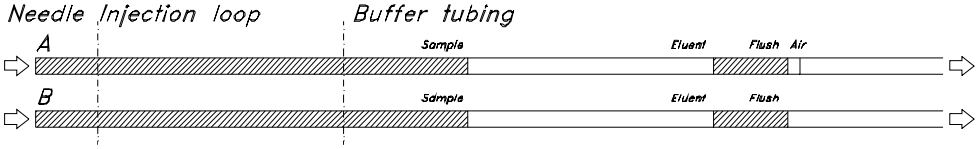
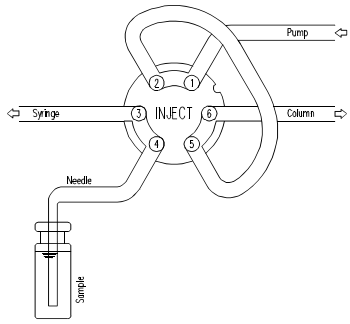


Fig. 10 Situation after filling the loop in case of Full loop injections with air segment (A) or without air segment (B)

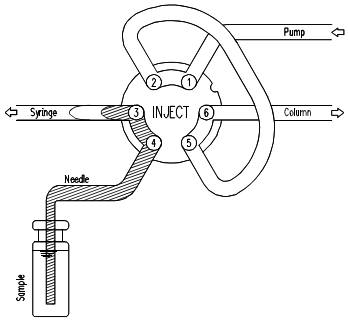
Partial loop fill injections

The switching sequence for a partial loop fill injection is schematically shown in the following figures:



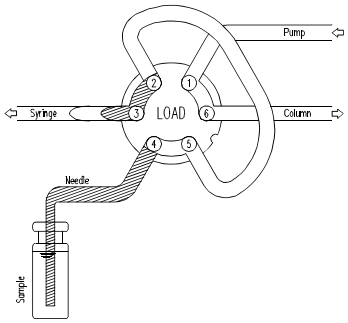
The Initial situation: the injection valve is in the **INJECT** position. The sample needle with air needle has entered the vial. The headspace pressure, applied through the outer air needle, ensures that no air or vapour bubbles are formed during sample aspiration.

Fig. 11 Partial loop fill injection: initial situation.



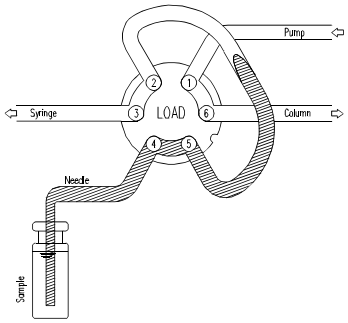
The syringe dispenser aspirates the “flush volume” from the sample vial to fill the sample line with sample and remove wash solvent.

Fig. 12 Partial loop fill injection: flushing sample lines and needle.



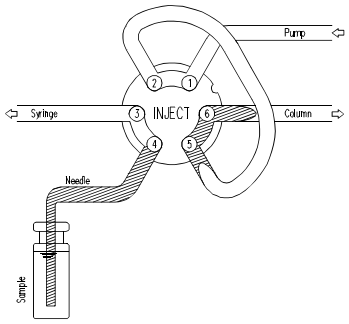
The injection valve is switched into the **LOAD** position, placing a distinct sample front at the inlet of the sample loop.

Fig. 13 Partial loop fill injection: switch injection valve to LOAD.



The programmed injection volume is now aspirated into the sample loop.

Fig. 14 Partial loop fill injection: filling the sample loop.



The injection valve switches into the **INJECT** position. The sample loop is now part of the HPLC mobile phase flow path: sample is transported to the column. The analysis starts.

Fig. 15 Partial loop fill injection: injecting sample.

The next injection sequence will start with a flush of 50% of the programmed flush volume, in case an injection from the same vial and no wash routine is programmed. Otherwise it will start with a flush of the programmed flush volume. If the withdrawal of sample for the next injection will exceed the total volume of the sample buffer tubing, the buffer tubing is rinsed before the next injection. The next injection will start with the programmed flush.

Air segment

An air segment can be used to reduce the amount of flush volume. This air segment is at the front of the flush volume and will not be injected. The air segment can be selected in system settings (ON/OFF, See page 34).

With a standard needle the flush volumes must be minimal 30 µl for injections with air segment and 35 µl for injections without air segment. If the samples are highly viscous it may be necessary to program larger flush volumes and reduce the syringe speed for better performance.

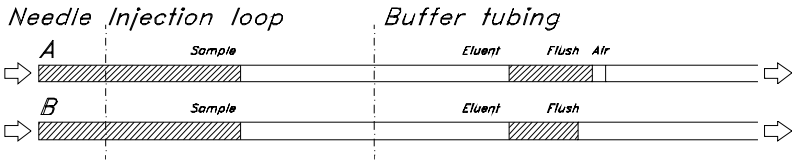
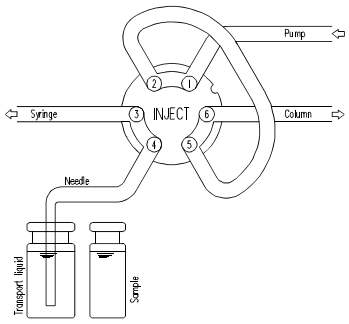


Fig. 16 Situation after filling the loop in case of Partial loop fill injections with (A) or without air segment (B)

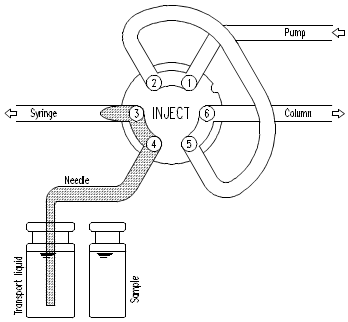
µl Pick-up injections

The switching sequence for a µl pick-up injection is schematically shown in the following figures:



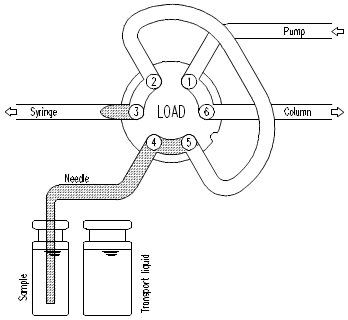
The Initial situation: the injection valve is in the INJECT position. The sample needle has entered the vial of transport liquid (mobile phase, this to avoid disturbance of the chromatogram with an additional peak of the transport solvent).

Fig. 17 µl pick-up injection: initial situation.



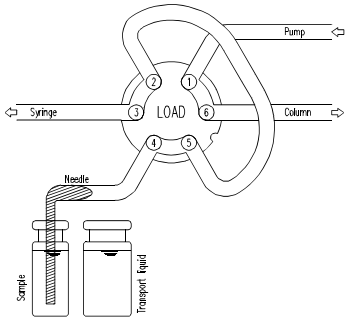
For the first injection, after a wash or after emptying of the buffer tubing. The syringe dispenser aspirates transport liquids from the transport vial to fill the sample line with transport liquid and remove wash solvents.

Fig. 18 µl pick-up injection: filling sample lines with transport liquid.



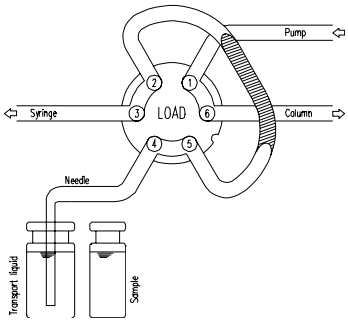
The needle moves from the transport vial to the sample vial. The injection valve is switched into the **LOAD** position.

Fig. 19 µl pick-up injection: go to sample vial and switch injection valve to LOAD.



The programmed injection volume is aspirated from the sample vial.

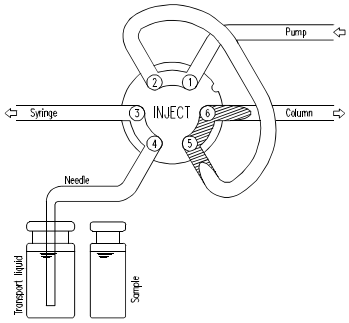
Fig. 20 µl pick-up injection: filling the sample loop.



The sample needle moves back to the transport vial.

The sample is quantitatively transported into the loop, with transport liquid (mobile phase) from the transport vial.

Fig. 21 µl pick-up injection: transporting sample into the sample loop.



The injection valve switches into the **INJECT** position. The sample loop is now part of the HPLC mobile phase flow path: sample is transported to the column. The analysis starts.

Fig. 22 : µl pick-up injection: injecting sample.

For the next sequence the first withdrawal of transport solvent is omitted, unless a wash routine is performed or the AS 3900 has emptied the buffer tubing into the waste. In those cases the sequence is completely repeated.

Air segment

If an air segment has been programmed, it appears at the front of the first plug of transport liquid and at the front of every sample plug. An air segment can be programmed in the system settings (See page 34).

In the µl pick-up mode, the air segment at the front of the sample plug is injected into the HPLC system.

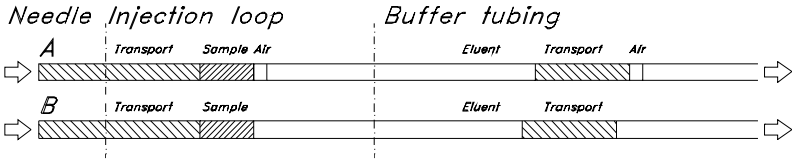


Fig. 23 Situation after filling the loop in case of µl pick-up injections with air segment (A) or without air segment (B)

In case of µl pick-up injections, there will be no air pressure (headspace pressure) on the vials, to avoid sample errors due to air expansion during vial exchange from the sample vial to the transport solvent vial.

Installation

Unpacking

Inspect the AS 3900 for indications of damage. Damage that occurs to the AS 3900 in transit, indicated by damaged containers, is the responsibility of the carrier and should be reported to the carrier immediately. Shipping containers should be inspected by the carrier if a claim is filed.

For contents of shipping containers see the packing list in container.

Before using the AS 3900 allow the instrument to acclimatise for a period of 1 hour.

It is recommended to store the shipping container of the AS 3900. It has to be used if it should be necessary to ship the AS 3900 for service purposes.

Lift the AS 3900 as shown below in Fig. 24.

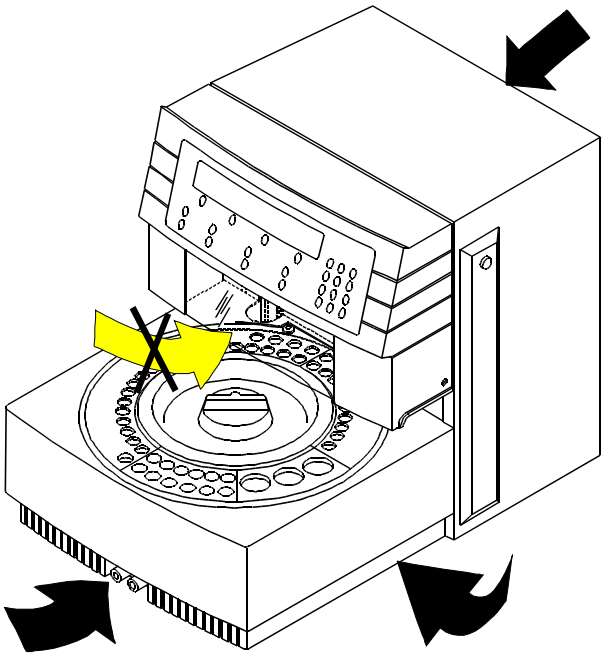


Fig. 24 AS 3900 lift instructions

Lift the AS 3900 with both hands under the instrument or with one hand under the front and the other hand grasping the rear top of the AS 3900.

Do NOT lift the AS 3900 at the front cover of the autosampler.

Location of AS 3900

The AS 3900 needs approximately 30 cm (12 inches) of bench space and one power supply (230 V_{AC} or 115 V_{AC}, 50/60 Hz).

The best place to put your AS 3900 is at the left-hand side of your HPLC system, next to your HPLC pump and detector. From the right-hand side you have the shortest connection to the injection valve of the AS 3900.

Be sure that none of the ventilation holes are blocked. Blockage of the ventilation holes can cause malfunctioning of the AS 3900 autosampler or even damage the electronics inside.

Do not install the AS 3900 in areas subject to excessive dust, direct sunlight or shocks and do not place it near any other source of heat, this will disturb the cooling of the tray when installed.

Power connections

Before plugging in the power cable, check voltage setting of the AS 3900 at the input socket on the rear-panel. Make sure that the voltage setting is identical with the voltage of your local power supply; use only a supply appliance with protective grounding.

If the indicated voltage is not correct select the proper voltage by removing, inverting, and then re–entering the voltage selector-cartridge.

Check if the right fuses are installed, if not replace them with the right fuses.

All fuses must be UL listed and CSA certified!
For 115 V_{AC} ±15%, use two 5 AT-fuses (slow).
For 230 V_{AC} ±15%, use two 2.5 AT-fuses (slow).

RISK OF FIRE, REPLACE FUSES AS MARKED.

When the voltage selection and fuses are correct for your power source, plug in the power cable.

Fluid connections

The AS 3900 is factory installed with a 250 µl syringe, a 100 µl loop, a 500 µl buffer tubing and a stainless steel sample needle.

A schematic presentation of all parts that have contact with any kind of fluid is shown below. This sticker can be found on the inside of the front cover.

To get access to the fluidics, it is necessary to open the front cover of the AS 3900, therefore remove the screw on the right-hand side of the AS 3900 front cover.

See Table 1 for the dimension of the standard installed tubing.

To obtain an optimal performance of the AS 3900, a correct combination of syringe, loop and buffer tubing should be installed, see also section Needle and tubing on page 52.

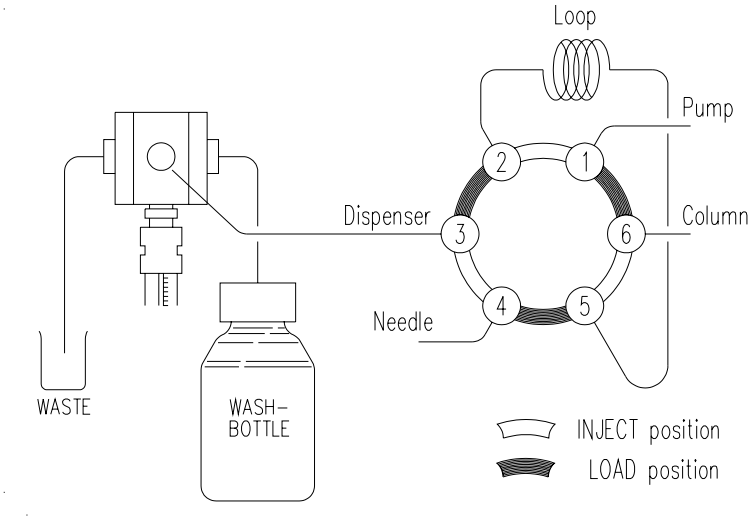


Fig. 25 Fluid connections of the AS 3900 (sticker).

Table 1: Standard installed tubing of the AS 3900.

Tubing	Material and dimensions		Label
Standard sample needle and tubing.	SS tubing; Tefzel tubing;	70 mm x 0.65 mm OD x 0.25 mm ID 155 mm x $^{1}/_{16}$" OD x 0.25 mm ID	15 µl
Buffer tubing from high-pressure valve to syringe valve.	PTFE tubing;	640 mm x $^{1}/_{16}$" OD x 1.0 mm ID	500 µl
Tubing syringe valve to wash solvent bottle.	PTFE tubing;	300 mm x $^{1}/_{16}$" OD x 1.0 mm ID	
Tubing syringe valve to waste.	PTFE tubing;	400 mm x $^{1}/_{16}$" OD x 1.6 mm ID	

HPLC connections

To ensure reproducible injections the following connections to your HPLC system should be made:

Connect the HPLC pump to port 1 of the injection valve.

Connect the HPLC column to port 6 of the injection valve.

The instrument has been flushed with isopropanol: make sure that the mobile phase of your HPLC system is miscible with Isopropanol. If not start up with an intermediate solvent as mobile phase (disconnect the HPLC column)

It's essential that the contents of the sample loop are injected in back flush onto the column, therefore: **Do not exchange column and pump connections at the injection valve.**

Waste tubing

General waste: (See Fig. 3, pos. 7)

Connect the drain tubing (in the ship kit of the AS 3900) to the right-hand drain hose connector of the AS 3900 and put it in a bottle, which is placed on the floor. Through this drain all the liquid dispensed into the wash position, is removed.

Sample, which is not injected, is also removed through this tubing.

Syringe waste: (See Fig. 25)

Place the syringe waste tubing into a small bottle next to the AS 3900. If no injection volumes are programmed that are larger than the buffer tubing can contain, the syringe waste will only be wash solvent.

Condense water and leakage drain: (See Fig. 3, pos. 8)

Through the left-hand hose connector all leakage solvents and condensed water, in case a Peltier cool option is installed, is drained.

If the optional Peltier tray cooling is installed, it is advisable to connect this hose connector (in the ship kit of the AS 3900) to a waste container on the floor.

Be sure that the drain and waste tubing are not twisted and thereby obstructing the flow path.

Wash solvent and System rinse

Use a clean bottle for the wash solvent and place it at the left-hand side of the AS 3900.

It is recommended to use a mixture of distilled water / isopropanol (80/20 $^{v}/_{v}$%) or mobile phase as wash solvent.

Before using the wash solvent, degas the solvent with Helium or an ultrasonic bath.

Do not use salts or buffer solutions; crystals may block or damage the system.

To fill the wash solvent tubing use the following procedure:

- Put the wash solvent tubing in the filled wash solvent bottle.
- Press **<MAINTENANCE>** to go to the AS 3900 maintenance functions.
- Fill the tubing using the AS 3900 soft-function keys **<SYR END>** and **<SYR HOME>**.

- With **<SYR END>** a syringe volume of wash solvent is aspirated from the wash solvent bottle and the wash solvent tubing is filled.
- With **<SYR HOME>** the syringe contents will be dispensed to the syringe waste.

- Repeat this action until the wash solvent tubing and the syringe are completely filled.
- Press **[Escape]** to leave the maintenance screen.

After the wash solvent tubing and the syringe are filled, press **<WASH>** to perform a standard wash routine. All tubing connected to the syringe valve will be rinsed with wash solvent.

Syringe

The AS 3900 is factory equipped with a 250 µl syringe, but can also be equipped with a 1000 µl syringe, See page 55 how to replace the syringe.

The AS 3900 will give the best results if all air is removed from the syringe. Use **<WASH>** to remove air from the syringe, if this is not satisfactory, See page 23 for more tips on removing air.

Preparation of vials

Vial dimensions

The AS 3900 is standard equipped with a tray which can contain 84 standard sample and three large volume vials for reagents and transport liquid.

Vials used should meet the following dimensions:

Maximum vial height, including cap:	47 mm
Minimum vial height, including cap:	32 mm

Maximum vial diameter:

Standard sample vial:	12 mm
Reagent / transport liquid vials:	22 mm
Large sample volume vials:	22 mm

The following section contains examples of Chromacol vials witch can be used in the AS 3900. See appendix A, List of accessories, for the corresponding article numbers for the vials, seals and caps.

Chromacol standard sample vials

The following Chromacol vials can be used in the AS 3900. For each vial the Chromacol reference number is given.

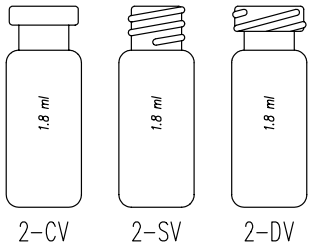


Fig. 26 Standard sample vials.

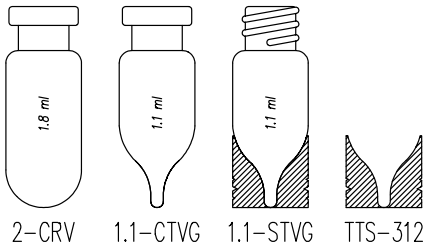


Fig. 27 Conical vials with support.

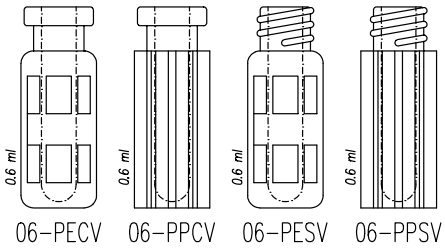


Fig. 28 Plastic vials.

To reduce the volume of standard vials use a Chromacol insert (02–MTV, 02–MTVWG or 03–MTV) in combination with the appropriate vial and support sleeve or spring.

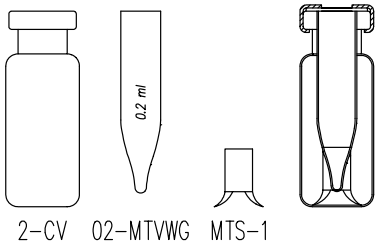


Fig. 29 Standard vial with insert.

Chromacol 2.5-CV vials

It is possible to use the Chromacol 2.5-CV vials in the AS 3900.

When used, this vial type must be programmed in the System Settings, see page 34.

AS 3900 uses two aspiration heights to aspirate liquid from the 2.5-CV vials. Therefore the vials need to be full, when AS 3900 is started.
When a vial is not full the AS 3900 might aspirate air!

Chromacol reagent and transport liquid vial

The following Chromacol vial can be used for reagents and transport liquid; this vial can also be used in the optional LSV tray.

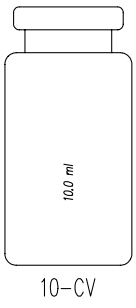


Fig. 30 Reagent and transport liquid vial.

Do not use the 10-CV vials without being capped.
The AS 3900 vial sensor will NOT detect uncapped vials!

Only use the following seal in combination with the 10-CV vials:

Chromacol:	20-ST101

together with one of the following caps:

Chromacol:	20-ACB	(Blank aluminium cap
	20-MCB	(Blank tinplate cap)

AS 3900 uses two aspiration heights to aspirate liquid from the 10-CV vials. Therefore the vials need to be full, when AS 3900 is started.
When a vial is not full the AS 3900 might aspirate air!

Eppendorf micro centrifuge tubes

Eppendorf micro centrifuge tubes may be used instead of the standard vials.

To avoid cross-contamination prevent the air needle to make contact with the sample.

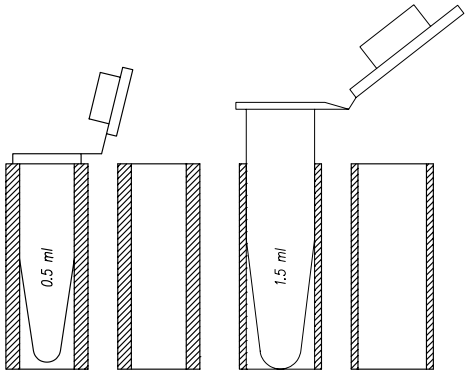


Fig. 31 *Eppendorf micro centrifuge tubes with support sleeve.*

When using Eppendorf micro centrifuge tubes in the AS 3900 do not leave open spaces on the tray. The vial detection system may not always detect a missing tube because of the shape of the tubes.

Filling and sealing the vials

The standard vials, as well as the conical vials, can best be filled by means of a narrow–end pipette to allow air to escape when filling the vial.

Do not fill vials to the edge! In that case sample will be forced into the air needle, risking extra cross-contamination of samples and fouling of the needle pair.

It is important that the seal is airtight, to maintain a pressure on the vial for air bubble prevention and to prevent evaporation of volatile samples.

When using uncapped vials, the performance of the injections may not meet the specifications anymore (precision).
Do not re-use a sample vial frequently without replacing its cap or septum.

Check seal after crimping: if the cap can be turned easily, the seal is not airtight (re-adjust hand–crimper).

Loading the sample tray

Place vial in the tray and link them to methods in the Series, See page 43.
To get access the tray can be rotated manually when AS 3900 is not running.

Control I/O connections.

The AS 3900 has standard three I/O connectors:

- RS232 connector for serial communication using the Smartline protocol, see section I/O configuration on page 37.
- Contact closures output connector (P1)
- TTL input connector (P2)

The manufacturer will not accept any liability for damages directly or indirectly caused by connecting this machine to instruments which do not meet relevant safety standard!

Contact closure output connector (P1):

Table 2: Connector P1: Contact closure outputs.

Pin no:	Description:	
1	Inject marker 1	Normally open
2	Inject marker 1	Common
3	Inject marker 1	Normally closed
4	Auxiliary 1	Normally open
5	Auxiliary 1	Common
6	Auxiliary 1	Normally closed
7	Inject marker 2	Normally open
8	Inject marker 2	Common
9	Inject marker 2	Normally closed
10	Alarm output	Normally open
11	Alarm output	Common
12	Alarm output	Normally closed
13	Auxiliary 2	Normally open
14	Auxiliary 2	Common
15	Auxiliary 2	Normally closed

V_{MAX} = 28 V_{DC} / V_{AC} , I_{MAX} = 0.25 A

An **Inject marker output** (1 and 2) will be generated when the injection valve switches from **LOAD** to **INJECT**.
The **Alarm Output** will be activated whenever an error occurs, see appendix B for a description of the error codes of the AS 3900..

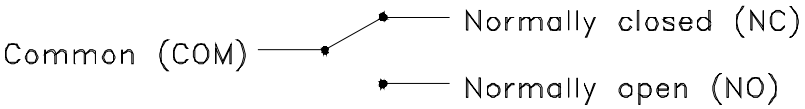


Fig. 32 Contact closure output

TTL input connector (P2):

This connector is an active high or active low TTL input, user definable in the System Settings. The **Next Injection Input** can be used when the AS 3900 works in **Remote Control**. The **Freeze Input** and **Stop Input** can be used to control the AS 3900 by other devices.

Table 3: Connector P2: TTL inputs.

Pin no:	Description:
1	Next Inject Input
2	Signal Ground
3	Freeze Input
4	Stop Input
5-9	Signal Ground

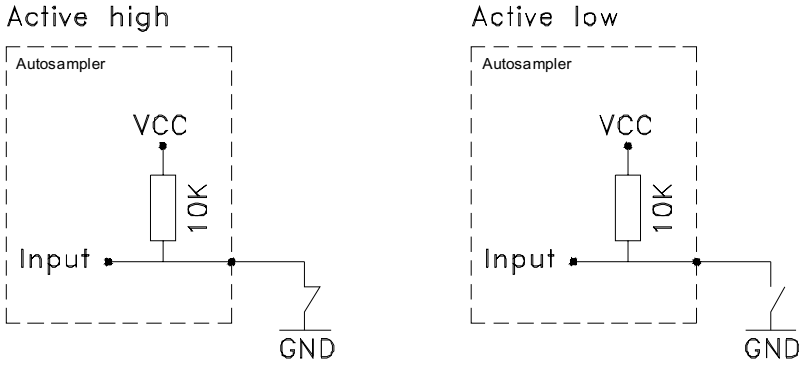


Fig. 33 TTL Input

Next Injection Input:

This input will start the next injection sequence when the AS 3900 is started in Remote Control. After finishing the injection sequence the AS 3900 will wait for the **Next Injection Input**.

From the **Ready** screen a **Next Injection Input** will start the latest programmed Series. In this case the AS 3900 will not wait for the **Next Injection Input** before continuing with the next injection. The AS 3900 will execute the complete Run as if it was started with the **[Start/Stop]** key.

Freeze input:

The AS 3900 will freeze the analysis time for the time this input is active. If the **Freeze Input** is activated while the analysis time is not running, the AS 3900 will perform all programmed pre-injection sample handling (mix method and sample loop). But the AS 3900 will wait with injecting the sample until the **Freeze Input** is no longer active.

Stop Input:

With this input the run of the AS 3900 is immediately aborted and return to the **Ready** screen. In case the AS 3900 is in Remote Control, the Run of the AS 3900 is immediately aborted but the AS 3900 remains in Remote Control and can not be re-started with a **Next Injection Input**, see also section Remote control on page 45.

Multi Link Connector

The MultiLink connector is used to make the AS 3900 communicate with software packages like ChromGate® and EuroChrom®.

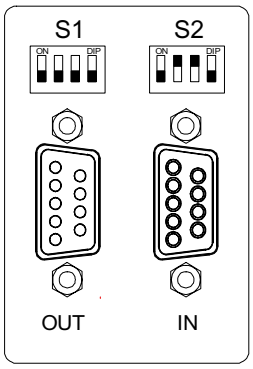
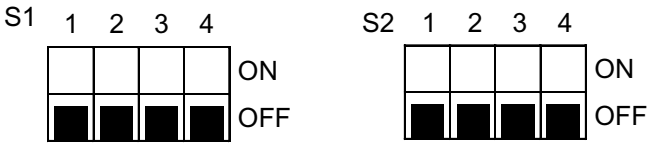


Fig. 34 MultiLink board

Set the dipswitch S1 and S2 as follows to let the communication work probably:



Port		Description
S1:	OUT	to next device
S2:	IN	to PC or previous device

Connections for 9 pin connector:

pin 2	TD	Transmitted data to the computer.
pin 3	RD	Received data from the computer.
pin 5	SG	Signal ground (Also indicated as GND in some devices)

Operation

Typographic convention

KEYBOARD KEYS:

Hard function keys:	Function keys are printed in the text between square brackets. [Start/Stop], [Hold/Cont.], [Priority], [Series], [Methods], [System], [Escape], [Menu], [Clear] and [Enter].
Soft function keys:	Soft function keys are printed in the text between pointed brackets. Example: **<WASH>**, **<SYR END>**.

DISPLAY:

In the text a display is represented as follows:

```
                                    [MENU]
              READY (X.XX)       OVEN:30°C
                                 TRAY:10°C
  <WASH>  <MAINTENANCE>  <SERIAL>  <TEMP>
```

How to use the keyboard

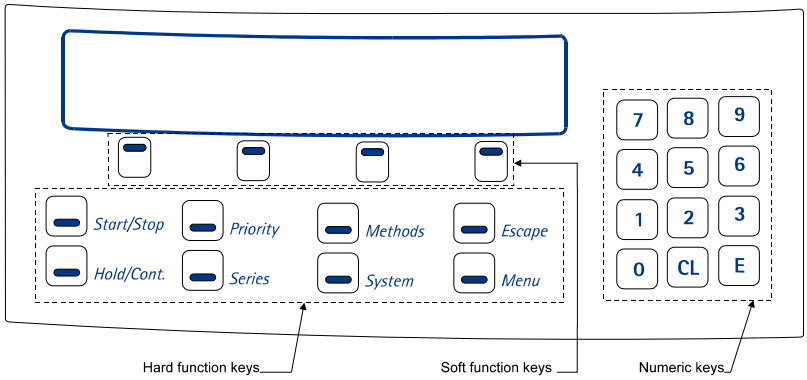


Fig. 35 Keyboard of the AS 3900.

The keyboard comprises 24 keys, which can be divided into three major groups:

1. **Numeric keys**: 0 to 9, the **[Clear]** key (**CL**) to erase a value and the **[Enter]** key (**E**) to enter a value.
2. **Hard function keys**: Three keys to start and control the AS 3900 during the run; **[Start/Stop]**, **[Hold/Cont.]**, **[Priority]**. Four keys to program the AS 3900; **[Series]**, **[Methods]**, **[Menu]**, **[System]**. And the **[Escape]** key to leave programming or to go to a previous level or return to the **Ready** screen (“Main” screen).
3. **Soft function keys**: Keys, which have different functions, depending on the status of the AS 3900 as indicated on the lower display line.

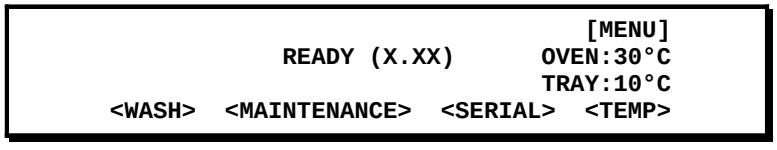
Hard function keys

Keyboard function	Description
[Start/Stop]	Start and stop automatic processing.
[Hold/Cont.]	Hold or continue the countdown of the analysis time. The analysis time is extended with the time that **Hold** is active.
[Priority]	Interrupt a sample run to process an emergency sample prior to the next sample of the programmed sample Series. After the priority sample the sample run is continued.
[Series]	Enter the **Series** programming mode. In the Series, vials are linked to methods.
[Methods]	Enter the **Methods** programming mode.
[Menu]	The **[Menu]** key is only active when "**[Menu]**" appears in the right top corner of the display. In that case there are more than four soft function keys available. With the **[Menu]** key it is possible to toggle between the soft function keys.
[System]	Enter the **System Settings** programming mode. In the system settings the configuration of the AS 3900 is defined.
[Escape]	Return to the previous programming level when you are in programming mode, the programmed parameters are checked and stored in battery backup memory.
[CL]	**Clear**; Removes the actual value of the active programmable parameter. In some cases the value **NONE** will be displayed.
[E]	**Enter**; Store and check all values in a screen. If all values are valid the next programming screen will be displayed.
0 - 9	Numeric keys; used to enter values for programming parameters. The values are stored when going to the next parameter with **[Enter]** or when leaving a programming mode with **[Escape]**.

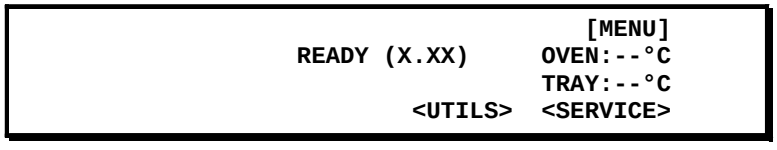
Direct functions

After power up, the AS 3900 will run an initiation routine in which it performs a self-test and everything is set to its default positions.

After that the AS 3900 will return with the **Ready** screen:



[Menu]:



In the **Ready** screen the AS 3900 will display at the bottom line the soft functions which can be used from this screen. With the **[Menu]** key it is possible to toggle between the screens.

At the right-hand side of the screen one or two temperatures are shown, the oven temperature and the tray temperature, when this option is installed.

Direct Control functions:

<WASH>

Activates the manual wash of the AS 3900. All tubing, the needle and the syringe will be rinsed.

<MAINTENANCE>

The maintenance screens will provide three functions to control the needle arm, the syringe and the injection valve.

<NDL HOR>

This function is build-in to facilitate the replacement of the sample needle, air needle and valve. See also section Sample needle replacement on page 54, for detailed information.

Press **<NDL HOR>** to move the needle arm horizontally above the inner sample ring. When the needle arm reaches the front position. It will return to its home position by pressing **<NDL HOME>**.

<SYR END>

This function facilitates the exchange of syringes and filling of the wash solvent tubing. See also section Syringe on page 55, for detailed information.

Press **<SYR END>** to move the syringe to its end position, thereby aspirating wash solvent into the tubing and syringe. It stops from where it will return to its home position by pressing **<SYR HOME>**, thereby dispensing the wash solvent to waste.

After changing a syringe all tubing can be rinsed using **<WASH>** as described above.

<VLV LOAD>

With this function the injection valve can be switched.
Press **<VLV LOAD>** to switch the valve from INJECT to LOAD.
When the valve is in the LOAD position it can be switched back to INJECT by pressing **<VLV INJ>**.
It is not possible to leave this function when the valve is in the LOAD position, first switch back by pressing **<VLV INJ>** and then press **[Escape]**.

To leave the maintenance screen and return to the **Ready** screen press **[Escape]**.

<SERIAL>

After pressing **<SERIAL>** the AS 3900 enters the serial communication mode. From this mode the AS 3900 can be controlled from a personal computer using the RS232 interface and the Smartline application software. Refer to the Smartline manual for operating instructions. This manual is available on request as a separate document.

```
                    SERIAL MODE

                                <PANIC STOP>  <EXIT>
```

After entering the serial mode only the following two soft function keys are available on the AS 3900 (the other keys are disabled):

<PANIC STOP>	The AS 3900 will immediately stop the run and leave the serial communication mode and initialize.
<EXIT>	The AS 3900 will leave the serial communication mode and return to the **Ready** screen. The AS 3900 can be operated from the keyboard again. This soft-function key is **NOT** active when the AS 3900 is **Running** in the serial communication mode

After pressing the <PANIC STOP> **soft function key, perform a wash routine to ensure that all tubing are rinsed.**

<TEMP>

After pressing **<TEMP>** the AS 3900 enters the temperature control screen for the column thermostat and the sample tray cooling (optional).

```
     PROGRAMMING TEMPERATURE SETTINGS


        <OVEN>  <TRAY-COOLING>
```

To program the column oven temperature press **<OVEN>**:

```
  PROGRAMMING OVEN SETTINGS
OVEN: OFF  SETPOINT: 20°C

   <ON>    <OFF >
```

Turn the column oven on by pressing **<ON>** and program the new set point. After pressing **[Enter]** the new oven set point will be activated and the AS 3900 returns to the first temperature-programming screen.

Although it is possible to program set points from 0°C to 60°C, the AS 3900 oven can only control the temperature at ambient temperature + 5°C and up.

If the oven is set ON **from the Ready screen (See page 33). The oven will be switched OFF if NO initial oven set point is programmed.**
If the oven is OFF **and an initial set point is programmed, the oven will be activated. AS 3900 will wait before continuing with the Series until the initial set point ± 2 °C is reached.**

If the optional tray cooling is installed, it can be programmed after pressing **<TRAY-COOLING>**:

```
     PROGRAMMING COOL SETTINGS
     COOLING: OFF  SETPOINT: 04°C

        <ON>    <OFF>
```

Turn the tray cooling on by pressing **<ON>** and program the new set point. After pressing **[Enter]** the new tray cooling set point will be activated and the AS 3900 returns to the first temperature-programming screen.

Temperature range tray cooling: 4°C - 15°C
Maximum cool capacity: 20°C below ambient temperature

After all values are programmed press **[Escape]** to return to the **Ready** screen.

<UTILS>

After pressing **<UTILS>** the AS 3900 offers three Utility soft functions:

<COPY>	Copy a method.
<ERASE>	Erase a method.
<LOG>	AS 3900 logbook, containing information on the number of switching of the injection valve and the syringe valve and on the number of movements of the syringe dispenser.

<SERVICE>

The service mode of the AS 3900 can be entered after pressing **<SERVICE>** and entering the service entry-code. This code is only known to authorized service personnel.

System Settings

After pressing **[System]** the AS 3900 enters the **System Settings**, where all system variables of the AS 3900 can be set.

```
SYSTEM SETTINGS                    [MENU]
SELECT SETTINGS TO DEFINE

<GENERAL>  <METHOD>   <TRAY>     <IO>
```

[Menu]

```
SYSTEM SETTINGS                     [MENU]
SELECT SETTINGS TO DEFINE
                                 TRAY:10°C
<SERIAL>   <PREP>
```

The System Settings are divided in five sub-sections: to enter a sub-section, press the corresponding soft function key. To step through a sub-section press the **[Enter]** key.

After all values are defined correctly within a sub-section, return the menu screen of the System Settings by pressing **[Escape]**. Return to the **Ready** screen by pressing **[Escape]** one more time. The values are stored in battery back up memory.

The following sections show the programmable system settings, with their ranges.

General System Settings

Press **<GENERAL>:**

GENERAL SYSTEM SETTINGS	Range	Comment
Volume of installed loop:	0-5000 µl	The volume of the installed loop. The AS 3900 uses this value for calculations of injection volumes.
Volume of tubing needle -> valve:	0-999 µl	The volume of the tubing and needle connected to the injection valve. The AS 3900 uses this value for calculations of flush and transport volumes.
Syringe volume:	<250> <1000>	The volume of the installed syringe.
Syringe speed:	<LOW> <NORMAL> <HIGH>	The aspirating and dispensing speed are programmable in three steps: **NORMAL** for samples with a viscosity almost equal to the viscosity of water. **LOW** for samples with a higher viscosity and **HIGH** for samples with a lower viscosity compared to water. (See Table 4: Syringe speed.).
Skip missing vials:	<YES> <NO>	Define if the AS 3900 has to stop if a vial is not found or continue with the next programmed vial. Program **<NO>** to stop the AS 3900 in case a vial is not found.
Air segment:	<YES> <NO>	Inject a sample with or without an air segment between the sample and the wash solvent. If the air segment is **ON** (YES) the AS 3900 will draw an air segment of 5 µl before the flush volume prior to an injection. The air segment will not be injected in the analytical system. In case of µl pick-up the sample will be preceded by an air segment, which will be injected in the analytical system. (see page 18)
Headspace pressure:	<YES> <NO>	The AS 3900 normally uses headspace pressure in combination with the syringe to transport sample in to the loop. If, for some reason, no headspace pressure is allowed, it can be switched **OFF** (NO). The compressor will always be used in the wash position of the AS 3900. The accuracy and reproducibility of the AS 3900 can decrease when NO headspace pressure is used.

Table 4: Syringe speed.

	250 µl syringe		1000 µl syringe	
Syringe speed:	Aspirate	Dispense	Aspirate	Dispense
LOW	0.31 ml/min	3.4 ml/min	1.25 ml/min	5.5 ml/min
NORMAL	0.62 ml/min	3.4 ml/min	2.50 ml/min	5.5 ml/min
HIGH	0.94 ml/min	3.4 ml/min	3.75 ml/min	5.5 ml/min
Wash syringe speed:	3.4 ml/min		13.7 ml/min	

Method System Settings

Press **<METHOD>:**

METHOD SYSTEM SETTINGS	Range	Comment
Use calibration vials:	<ENABLED> <DISABLED>	Determine if calibration vials can be used in Series.

Tray Settings

Press <TRAY>:

TRAY SETTINGS	Range	Comment
Tray type:	<84+3>	Standard tray with 84 vials, 1.5 ml and 3 vials of 10 ml for special use. Vials 85-87, will be used for transport solvent for the µl pick-up injections. When the use of mix item is enabled in the System Setting the three 10 ml vials will be used as follows: vial 85: transport solvent vial 86: Reagent A vial 87: Reagent B
Tray type:	<96>	Tray with 96 vials of 1.5 ml.
Tray type:	<24>	Tray with 24 vials of 10 ml.
Vial type:	<STANDARD>	Standard vials are used.
(only when <84+3> or <96> is selected)	<2.5ml>	Only 2.5 ml vials are used. (Chromacol 2.5-CV, 12 X 40 mm)

Only with the standard <84+3> tray it is possible to perform a mix and to use the µl pick-up injection mode.
With the other two trays both, the mix and the µl pick-up injection mode will automatically be disabled.

If 2.5 ml vials are used be sure to fill the vials completely before starting a RUN. AS 3900.

I/O configuration

Press <IO>:

I/O CONFIGURATION	Range	**Comment** See also section Vial dimensions on page 24.
Injection marker pulse length:	0.0 - 2.0 sec.	Define the length of the inject marker pulse. Normally 1.0 sec.
Input edge next injection:	<FALLING> <RISING>	Define the edge sensitivity of the next injection input.
Freeze input active:	<LOW> <HIGH>	Define the level to activate the freeze function.
Reset outputs after last Series:	<YES> <NO>	Define if the outputs should be reset to the default settings after finishing the last Series.

If the freeze input is set HIGH**, the time base will freeze if the input is not connected to another device.**
Consequently: the AS 3900 will not start!

Serial Communication

Press <SERIAL>:

SERIAL COMMUNICATION	Range	Comment
Device identifier:	60-69	Device identifier used by the Smartline protocol

Prep Mode System Settings

Press <PREP>:

PREP SYSTEM SETTINGS	Range	Comment
Use Prep Mode:	<YES> <NO>	Define if the AS 3900 is a standard autosampler, or a **Prep mode** autosampler.

When choosing for the Prep Mode, some System Settings are no longer programmable, but set to a fixed value. See also appendix E.

In the Prep Mode the mix, the full loop and µl pick-up injection mode, will automatically be disabled.

In the Prep Mode not all of the System Settings are programmable, see table below for an overview.

Table 5: Fixed System Settings in Prep Mode.

General System Settings	
Volume of the installed loop	10000 µl
Syringe volume	2500 µl
Air segment	<NO>
Method System Settings	
Use of calibration vials	<DISABLED>
Tray System settings	
Tray type	<24>

For information how to install the Prep option to a standard AS 3900 see appendix E.

Injection volumes Prep AS

Ensure that the programmed injection volume does not exceed the 50% of the loop volume, otherwise the reproducibility and accuracy of the injection can not be guaranteed.

Method programming

The AS 3900 offers nine programmable methods.
Depending on your needs a method may comprise:

- **Injection program** Containing information on the type of the injection with the flush volume, injection volume, number of injections per vial and the analysis time.
- **Wash program** Containing information on the wash of the AS 3900.
- **Mix program** Containing information on the sample handling of the sample prior to the injection.
- **Timed events program** Containing information on the auxiliaries and the temperature of the column oven during the analysis of the sample.

A method is any combination of the above and is saved as combination under its method number.

To enter the method programming mode press **[Method]**.

After entering the method number the AS 3900 will return with the main screen of method programming:

```
PROGRAMMING METHOD NUMBER: 1  (I W M T)
SELECT SECTION TO PROGRAM

<INJECTION>  <WASH>   <MIX> <TIMED EV.>
```

From this screen the different sections can be programmed after pressing the corresponding soft function key.
Existing programs in this method are displayed between brackets on the first line; **I** for the injection program, **W** for the wash program, **M** for the mix program and **T** for the timed events program.

After programming the method press **[Escape]** to leave the method programming.
The methods are stored in battery backup memory.

Injection program

After pressing **<INJECTION>** the AS 3900 returns with the main screen of injection programming.

```
METHOD NUMBER: 1   SECTION: INJECTION
INJECTION MODE: PARTIAL LOOPFILL

  <FULL>   <PARTIAL>  <PICK-UP>  <NONE>
```

Select the mode of injection to be used or select **<NONE>** if no injection is required in this method, see chapter Injection Principle for an explanation of the different injection principles.

<FULL>	Full loop injection mode, See page 15
<PARTIAL>	Partial loop fill injection mode, See page 16
<PICK-UP>	µl Pick-up injection mode, See page 18
<NONE>	No injection program in this method.

Depending on the injection mode selected the AS 3900 will ask for a Series of parameters:

Parameter:	Range:	
Flush volume:	0-9999 µl	The amount of sample used to fill the needle plus tubing connection to the injection valve (**not** the loop-fill volume). Only for full loop and partial loop fill injections.
Number of injections per vial:	1-9	Number of injections taken from the same vial.
Injection volume:	0-2500 µl	Only for partial loop fill and µl pick-up injections
Analysis time:	Max. 9:59:59	Analysis time starting at the moment of switching the injection valve from **LOAD** to **INJECT**.

Flush volumes smaller than twice the volume of the needle plus tubing between needle and injection valve may result in a decrease of performance!

The maximum programmable injection volumes are:

Full loop:	Not programmable, is equal to the loop volume but needs more sample to fill the loop completely: 3 x loop volume for loops <= 100 µl 2 x loop volume for loops from 100 µl to 500 µl 1½ x loop volume for loops > 500 µl
Partial loop fill:	50% of the programmed loop volumes.
µl pick-up:	Max. injection volume = ½ x loop volume - 1½ x needle tubing

After all parameters are programmed, return to the main screen of method programming by pressing **[Escape]**.

Wash program

After pressing **<WASH>** the AS 3900 returns with the main screen of wash program.

```
METHOD NUMBER: 1   SECTION: WASH
WASH BETWEEN: INJECTION

<INJECTION> <VIALS>  <SERIES>  <NONE>
```

A wash comprises two parameters:

Parameter:	Range:	
Wash between:	<INJECTION>	Wash the needle and tubing directly after every injection.
	<VIALS>	Wash the needle and tubing directly after every vial.
	<SERIES>	Wash the needle and tubing directly after every Series.
	<NONE>	Remove the wash item from the method.
Number of syringe volumes:	0-9	Wash volume in number of syringe volumes.

If the wash program is the only program used in a method, program a *wash between Series*, otherwise the Series with this method will not be executed!

After all parameters are programmed, return to the main screen of method programming by pressing **[Escape]**.

Timed events program

After pressing **<TIMED EV.>** the AS 3900 will ask if the timed events program must be used in this method if **<YES>** is pressed AS 3900 returns with the first screen of timed events programming.

If <NO> **is pressed the timed events program is not used in this method and the AS 3900 returns to the previous screen. The content of the timed events program is** NOT **removed and will be available if the next time** <YES> **is pressed.**

```
METHOD NUMBER: 1   SECTION: TIMED EVENTS
1. AUX-1 ON  AT TIME: 0:00:00

<AUX-1>   <AUX-2>   <OVEN>     <END>
```

The timed events program is a list of 20 programmable events to control other devices via the two auxiliaries (contact closures) or to activate a new oven set point. Each event can be programmed on a time base, which starts at the moment of injection.
Press **[Clear]** to remove the programmed time, the display will show the value: **NONE**.
A complete list is shown in Table 6, to step through the list use the **[ENTER]** key or one of the soft function keys to step direct to the first line of an other section.

Table 6: Timed events programming lines as they appear on screen.

<AUX-1>	1. AUX-1 ON AT TIME: 0:00:00
	1. AUX-1 OFF AT TIME: 0:00:00
	2. AUX-1 ON AT TIME: 0:00:00
	2. AUX-1 OFF AT TIME: 0:00:00
	3. AUX-1 ON AT TIME: 0:00:00
	3. AUX-1 OFF AT TIME: 0:00:00
	4. AUX-1 ON AT TIME: 0:00:00
	4. AUX-1 OFF AT TIME: 0:00:00
<AUX-2>	1. AUX-2 ON AT TIME: 0:00:00
	1. AUX-2 OFF AT TIME: 0:00:00
	2. AUX-2 ON AT TIME: 0:00:00
	2. AUX-2 OFF AT TIME: 0:00:00
	3. AUX-2 ON AT TIME: 0:00:00
	3. AUX-2 OFF AT TIME: 0:00:00
	4. AUX-2 ON AT TIME: 0:00:00
	4. AUX-2 OFF AT TIME: 0:00:00
<OVEN>	INITIAL OVEN SETPOINT: 00°C
	1. OVEN SETPOINT: 00°C AT TIME: 0:00:00
	2. OVEN SETPOINT: 00°C AT TIME: 0:00:00
<END>	END OF TIMED EVENTS AT: 0:00:00

Although it is possible to program set points from 0°C to 60°C, the AS 3900 oven can only control the temperature at ambient temperature + 5°C and up.

If the oven is set ON **from the Ready screen (See page 33). The oven will be switched OFF if NO initial oven set point is programmed.**
If the oven is OFF **and an initial set point is programmed, the oven will be activated. AS 3900 will wait before continuing with the Series until the initial set point ± 2 °C is reached.**
After the Series the oven will be turned OFF **again if the end of the last Series is encountered or the next Series does not contain an initial set point**

If NO **initial set point is programmed the lines with additional set point changes will not be displayed.**

If the END **time exceeds the programmed analysis time, this** END **time overrules the analysis time.**
The next injection will be started as soon as the timed events program has finished!

It is possible to program events after the END **time, but these events are not executed during the** RUN**.**

After all parameters are programmed, return to the main screen of method programming by pressing **[Escape]**.

Mix program

After pressing **<MIX>** the AS 3900 will ask if the mix program must be used in this method if **<YES>** is pressed AS 3900 returns with the first screen of the mix programming.

If <NO> **is pressed the mix program is not used in this method and the AS 3900 returns to the previous screen. The content of the mix program is** NOT **removed and will be available if the next time** <YES> **is pressed.**

```
METHOD NUMBER: 1   SECTION: MIX  LINE:01
END OF MIX

  <DOWN>     <UP>    <INSERT>   <DELETE>
```

The mix method can contain a maximum of 15 programmable lines (including the **END OF MIX**).

To scroll through the program steps use the **<DOWN>** and **<UP>** soft function keys.

Press **<DELETE>** to delete the displayed step.

Press **[Enter]** to edit the displayed step.

Press **<INSERT>** to insert a step **before** the displayed step.

```
METHOD NUMBER: 1   SECTION: MIX  STEP:01
SELECT ACTION:

   <ADD>     <MIX>    <WAIT>
```

Three action types can be programmed **<ADD>**, **<MIX>** and **<WAIT>**

<ADD>:	xxx µl	from	<SAMPLE> <REAG-A> <REAG-B> <WASH>	to	<SAMPLE> <DESTINATION>

Aspirate a programmed amount of xxx µl (max. = the syringe volume) from the sample vial, **<SAMPLE>**, a reagent vial, **<REAG-A>** or **<REAG-B>** or from the wash solvent bottle, **<WASH>**, and dispense it into the sample vial, **<SAMPLE>**, or the destination vial, **<DESTINATION>**.

To prevent cross contamination the AS 3900 will aspirate an additional volume of 25% of the programmed volume to flush the tubing and needle.

The aspirate and dispense speed depends on the selected syringe and syringe speeds; programmed in the System Settings, See page 34.

If the mix is programmed the reagents and transport solvent are positioned on the following places on the tray:

Transport solvent:	**vial 85**
Reagent A:	**vial 86**
Reagent B:	**vial 87**

Example: If the mix is programmed the reagents and transport solvent are positioned on the following places on the tray:

ADD 200 µl from Reagent A to Destination.

This will result in the following actions:

Aspirate an air segment of 5 µl, to separate the wash solvent in the buffer tubing from Reagent A.

Aspirate 50 µl Reagent A; to flush the tubing and needle.

Unload the syringe to the syringe-waste position.

Aspirate 200 µl Reagent A and dispense it to the destination vial.

Rinse buffer tubing and needle with wash solvent.

<MIX>: **x** times with **xxx** µl

Program a mix step: aspirate and dispense a number (x) of times a programmed amount (xxx µl) from the destination vial. If no destination vial is used the mix is performed in the sample vial.

Example: MIX 3 times with 250 µl.

This will result in the following actions:

Aspirate an air segment of 50 µl, to separate the wash solvent in the buffer tubing from solvent to be mixed.

Unload the syringe to the syringe-waste position.

Aspirate 250 µl the solvent and dispense it back into the vial.

Repeat the last action two times.

Rinse buffer tubing and needle with wash solvent.

<WAIT>: x:xx:xx

Wait a programmed period of time before continuing with the next step (reaction time).

After all parameters are programmed, return to the main screen of method programming by pressing **[Escape]**.

Programming the Run sequence; Series

In a Series or Run sequence, methods are linked to vials.

To enter Series programming press **[Series]**.

```
PROGRAMMING SERIES
SERIES NUMBER: 1
```

Key in a number (1-9) and press **[Enter]**.

The first parameter of a Series is a method number. Depending on the contents of this method and the System Settings the AS 3900 will return with a number of questions. Press **[Enter]** to step through the questions.

Each time a value has to be entered key in a number (1-9) or press **[Clear]** or 0 to select **NONE** and press **[Enter]** to go to the next screen.

- Method number: 1-9 or **NONE**

The value <NONE> **can be used for empty Series, when programmed; the Series will be skipped during the Run of the AS 3900. This is an easy way to remove a Series or leave the possibility to add Series during the Run,** **See page 47.**

Should a method consist of only the wash and/or a timed events program, no more questions will be asked.

When the use of calibration vials is enabled in the System Settings (See page 34) and the method does not contain a mix, the AS 3900 will ask the following questions:

Use calibration vials (see Fig. 36) **<YES> <NO>**

<YES>:

- First calibration vial:
- Last calibration vial:
- No of samples between calibrations

The range of sample vials is:

- Last sample vial
- Last sample vial

When the method contains a mix item in which destination vials are used, the AS 3900 will ask for the first position of the destination vials. The last destination vial is calculated based on the sample vial range:

- First destination vial:

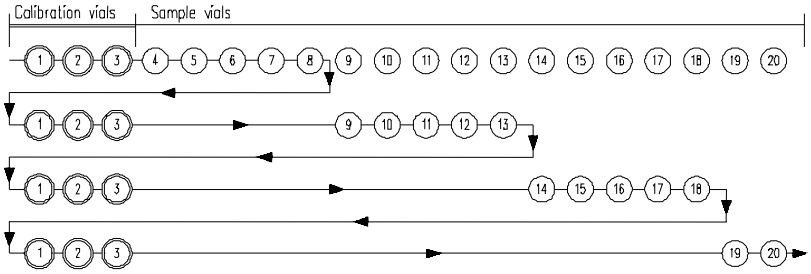


Fig. 36: Run sequence with 3 calibration vials between every 5 vials (First calibration vial: 1, last calibration vial: 3 and number of samples between calibrations: 5).

Sample vials and destination vials must be placed sequentially.

Sample vial and destination vial ranges must not overlap.

After all parameters are programmed return to the Series programming screen by pressing **[Escape]**, where an other Series can be programmed. If all Series are programmed, return to the **Ready** screen by pressing **[Escape]**.

Series are not stored in battery backup memory.
After switching ON **the Series are empty (method:** <NONE>**).**

Running

Start and Stop

To start a Run of the AS 3900 press **[Start/Stop]** at the **Ready** screen.

The AS 3900 will ask for the Series number to start with and the last Series number.

Enter each number and press **[Enter]** to step to the next screen.

```
EXECUTE SERIES 1


  <START>   <REMOTE>
```

AS 3900 can be started directly by pressing **<START>** or in Remote Control by pressing **<REMOTE>**, See page 45.

If a Mix or µl Pick-up injection method is used in any Series be sure the transport liquid vials and/or reagent vials are filled completely. If not the AS 3900 might aspirate air into the loop (See also page 25).

To return to the **Ready** screen without starting the AS 3900, press **[Escape]**.

During the Run the AS 3900 shows the following information:

```
STATUS: RUNNING            TIME: 0:00:00
SERIES:01  SAMPLE:01  INJ: 1/1 OVEN:--°C
METHOD:01                    TRAY:--°C
   AUX: 12
```

The first line shows the status and the elapsed analysis time.

The second line shows the Series number, the sample vial number, the current injection number, the total number of injections and the actual oven temperature; “- -“ indicates the oven is OFF.

The third line shows the method number of the current used method, this will also be the method used when a priority sample is programmed, See page 46. When the tray cooling is installed the actual tray cooling temperature is displayed; “- -“ indicates the tray cooling is OFF.

The fourth line shows information on the auxiliaries, when timed events are programmed in a method. When the number is displayed behind “AUX:” this indicates that the auxiliary is active.

Series are always executed in numerical order!
Empty Series will be skipped!

Pressing [**Start/Stop]** can stop the Run. The AS 3900 will execute a shutdown sequence by removing the entire sample from the buffer tubing and performing a standard wash routine.

Remote control

After programming the range of Series to be run, as described in the previous section press **<REMOTE>** to start the AS 3900 in Remote Control mode,

The AS 3900 will now operate as slave of another device and can be controlled with the **Next Injection Input**.

With the **Next Injection Input** AS 3900 will start the next injection in the Series. If the Series was completed, it starts the next injection from the next Series, until all Series have been completed.

During the Run, AS 3900 shows the following information:

```
STATUS: RUNNING            TIME: 0:00:00
SERIES:01  SAMPLE:01  INJ: 1/1 OVEN:--°C
METHOD:01                    TRAY:--°C
r  AUX: 12
```

A blinking "r" in the lower left corner of the Run screen, indicates the AS 3900 is running in Remote Control mode.

After completion of all Series the AS 3900 will display the following screen:

```
SERIES COMPLETED VIA REMOTE CONTROL
```

To return to the Ready screen press **[Escape].** From the Ready screen the AS 3900 can be re-started by pressing the **[Start/Stop]** key.

As long as the previous screen is displayed, it is not possible to re-start the AS 3900 with a *Next Injection Input*.

Priority sample

For an emergency sample, AS 3900 offers the possibility to analyze it immediately without stopping the current Run.

Press **[Priority]**, to enter the priority-programming mode.

Enter the position of the priority sample.

```
PROGRAMMING PRIORITY
PRIORITY SAMPLE: 12
```

Return to the Run screen by pressing **[Escape]**, the priority sample will be processed after the current sample has finished, with the **method**, which is running at the moment of entering the vial number.

To indicate the priority sample has been activated, a blinking "**p**" is displayed in the Run screen.

```
STATUS: RUNNING            TIME: 0:00:00
SERIES:01  SAMPLE:01  INJ: 1/1 OVEN:--°C
METHOD:01                    TRAY:--°C
 p  AUX: 12
```

As long as the "p**" is blinking it is possible to change or remove the priority sample.**

The priority mode is only available during the execution of a Series with a method, which does NOT **contain a Mix.**

If calibration vials are used in the current Series, the priority sample is included in the calibration interval!

Programming during Run

During Run of the AS 3900 it is possible to program Series and Methods: Press **[Series]** or **[Methods]**.
The programming possibilities are the same as described in sections Method programming and Programming the Run sequence; Series.

If a Series or Method is changed, the new values are active for Series after the current Series.
The current Series is NOT **affected by changes.**

It is not possible to add Series to the Run, but you can program empty Series between the first and last Series in a Run. As long as the empty Series have not been executed, they can be (re-) programmed. In this way Series with vials can be added later to the Run.

Maintenance

Injection valve

AS 3900 is equipped with a Valco or Rheodyne valve with quick connect mounting, or with the biocompatible valve with quick connect mounting. The next section describes how to exchange the valve assembly and contains the Valco Technical Note 810: **"**Cheminert® Module C2 Cleaning and Rotor Replacement", the Rheodyne "Operating Instructions for Model 7739 Valve" and "Operating Instructions for Model 9740 Valve".

Replacing the injection valve

The AS 3900 is equipped with quick connect mounting to simplify the exchange of valves.

To remove the valve proceed as follows (see Fig. 37):

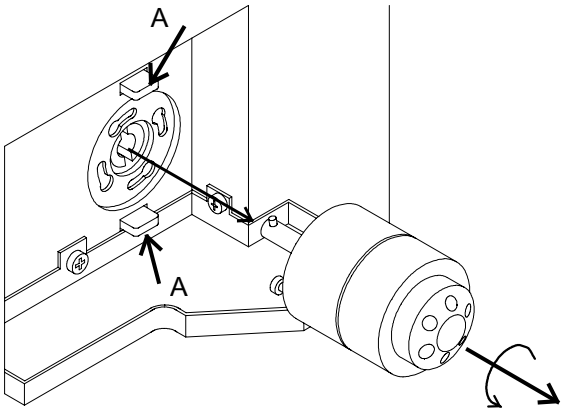


Fig. 37: Valve removal procedure

- Disconnect all tubing from the valve. Only the loop can stay in place.
- Place the needle arm in the front position, press **<MAINTENANCE> <NDL HRZ>**, see section Direct functions on page 31.
- Push the pushers A backward to release the valve.

- Pull the valve out of the instrument while turning the valve counter-clockwise.

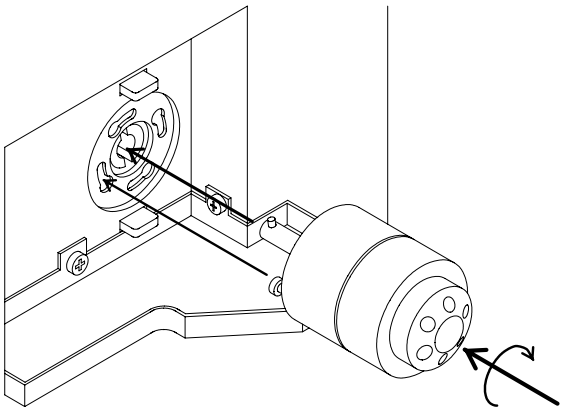


Fig. 38: Re-inserting the valve

To re-insert the valve proceed as follows (see Fig. 38):

- Hold the valve for the mounting with the port 1 position facing to the top.
- Push the valve into the mounting and turn the valve clockwise till it clicks in the fitting.
- Re-connect all tubing to the valve facing to the top.
- Insure that the valve is in the INJECT position. Switching the AS 3900 OFF and ON can do this, all Series will be reset.
- Perform a standard wash.

Valco Cheminert® Module C2 Valve

Cleaning and Rotor Replacement

(Technical Note 810, Valco Instrument Co. Inc.)

Cleaning a valve can often be accomplished by flushing all lines with appropriate solvents.

Do not disassemble the valve unless system malfunction is definitely isolated to the valve

Disassembly

See Fig. 39, exploded view.

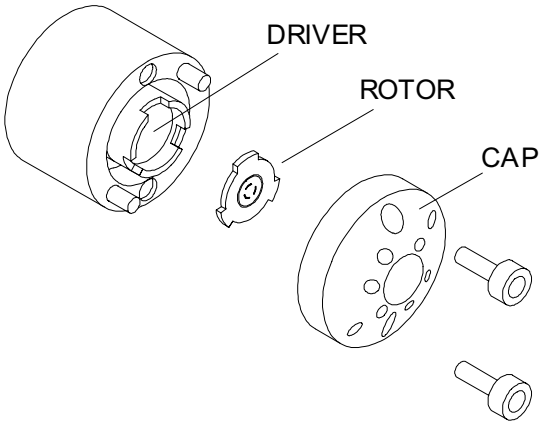


Fig. 39: Exploded view of the valve.

- Use a 9/16 hex driver to remove the socket head screws, which secure the cap on the valve.
- To insure that the sealing surface of the cap is not damaged, rest it on the outer face. Or, if the tubing is still connected, leave it suspended by the tubing.
- With your fingers or small tool, gently pry the rotor away from the driver.
- Examine the rotor sealing surface for scratches. If scratches are visible to the naked eye, the rotor must be replaced. If no scratches are visible, clean all the parts thoroughly with an appropriate solvent, taking care that no surfaces get scratched. (The most common problem in HPLC is the formation of buffer crystals, which are usually water-soluble) It is not necessary to dry the rotor.

Reassembly

- Replace the rotor in the driver, making sure that the rotor sealing surface with its engraved flow passages is facing out. The pattern is asymmetrical to prevent improper placement.
- Replace the cap. Insert the two socket head screws and tighten them gently until both are snug. Do not over-tighten them - the screws simply hold the assembly together and do not affect sealing force, which is automatically set as the screws close the cap against the valve body.
- Test the valve by pressurizing the system. If it doesn't hold pressure, the valve should be returned to Valco for repair.

Operating Instructions for Rheodyne Model 7739 Valve

Copy of Rheodyne Operating Instructions paper.

Description

Model 7739 is a two-position, six port stainless steel valve. Fig. 40 shows the flow diagram of the valve. The six small circles represent the ports in the valve stator. The slots are the connecting passages in the rotor seal. Rotation of the valve 60° switches the valve from one position to another.

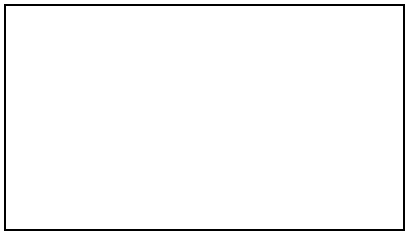


Fig. 40: Flow diagram of Model 7739 as viewed from stator Specifications

Specifications

- Maximum temperature is 100°C.
- The valve is set to hold 345 bar (5000 psi).
- The wetted surfaces are stainless steel and an inert polymer.

Maintenance

With normal use the valve will give many tens of thousands of cycles without trouble. The main cause of early failure, which is seen as a leak in the valve, is abrasive particles in the sample and/or mobile phase, which can scratch the rotor seal.

Following is the procedure for changing the rotor seal and isolation seal. Refer to Fig. 41 and proceed:

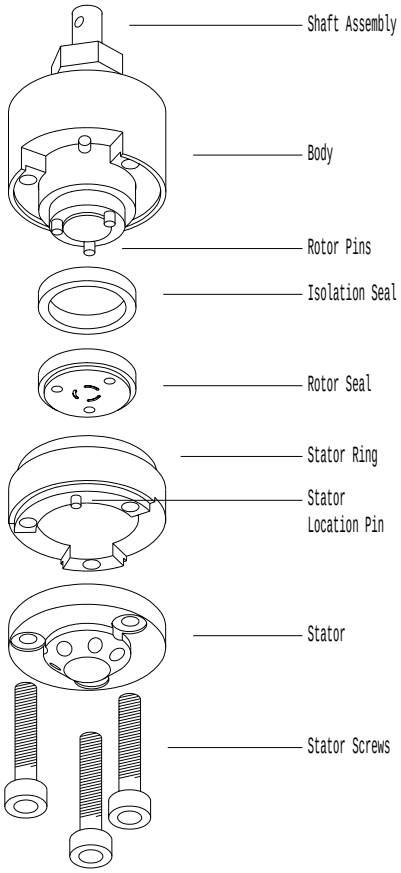


Fig. 41: Exploded view of Model 7739

- Remove the three stator screws with the 9/16” hex key.
- Remove the stator and stator ring from the valve body.
- Pull the rotor seal off the pins.
- Remove the isolation seal.
- Mount the new isolation seal with the spring side facing away from the rotor seal.
- Mount the new rotor seal. The three pins on the shaft assembly fit into the mating holes in the rotor seal only one way. Mount the seal with the grooves facing the stator.
- Replace the stator ring so that the body locating pin in the stator ring enters the mating hole in the body.
- Mount the stator on the valve so the stator locating pin in the stator ring enters the mating hole in the stator.
- Replace the three stator screws. Tighten each an equal amount until the screws are tight.

Operating Instructions for Rheodyne Model 9740 Valve

Copy of Rheodyne Operating Instructions paper.

Description

Model 9740 is a two-position, six port PEEK valve. Fig. 42 shows the flow diagram of the valve. The six small circles represent the ports in the valve

stator. The slots are the connecting passages in the rotor seal. Rotation of the valve 60°switches the valve from one position to another.

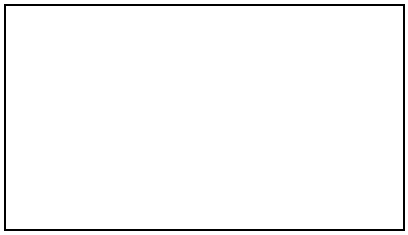


Fig. 42: Flow diagram of model 9740 as viewed from stator

Specifications

- Maximum temperature is 50°C.
- The valve is set to hold 345 bar (5000 psi).
- The wetted surfaces are PEEK alumina ceramic, and an inert polymer.

Important Safety Notices Caution:
Use only plastic ferrules in the stator ports. Metal ferrules can cause irreparable damage to the plastic stator.

Maintenance

With normal use the valve will give many tens of thousands of cycles without trouble. The main cause of early failure, which is seen as a leak in the valve, is abrasive particles in the sample and/or mobile phase, which can scratch the rotor seal.

Following is the procedure for changing the rotor seal, stator face assembly, and isolation seal. Refer to Fig. 43 and proceed:

- Remove the three stator screws with a 9/64 inch hex key.
- Remove the stator, stator face assembly and stator ring from the valve body.
- Pull the rotor seal off the pins.
- Remove the isolation seal.
- Mount the new isolation seal with the spring side facing away from the rotor seal.
- Mount the new rotor seal. The three pins on the shaft assembly fit into the mating holes in the rotor seal only one way. Mount the seal with the grooves facing the stator.
- Replace the stator ring so that the body locating pin in the stator ring enters the mating hole in the body.
- Put the new stator face assembly on the stator. The three pins on the assembly fit the mating holes in the stator only one way.
- Mount the stator and stator face assembly on the valve so the stator locating pin in the stator ring enters the mating hole in the stator.
- Replace the three stator screws. Tighten each an equal amount until the screws are tight.

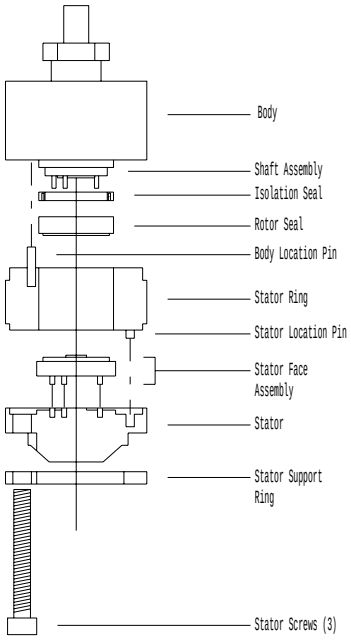


Fig. 43: Exploded view of Model 9740.

Needle and tubing

Two sizes of syringes are available for the dispenser:
250 and 1000 µl

The 250 µl syringe is the standard syringe; combined with the standard 500 µl buffer and the standard 100 µl sample loop, the following injection volume range is available for the various injection modes:

- Full loop: 100 µl
- Partial loop fill: 1 - 50 µl
- µl pick-up: 1 - 27 µl

The maximum injection volumes are calculated with the following formulas:

- Full loop: injection volume = loop volume
- Partial loop fill: max. inj. volume = ½ x of loop volume
- µl pick- up: max. inj. volume = ½ x loop volume - 1½ × needle volume

Full loop gives **maximum possible reproducibility**, but not maximum accuracy, since loop volume is specified with an accuracy of ± 10%.
Minimum sample loss = 230 µl (2 x loop overfill + flush volume for needle).

Partial loop fill gives **maximum accuracy** (dependent on syringe accuracy) plus reproducibility better than 0.5% RSD for injection volumes > 10 µl
Minimum sample loss (Flush volume) = 30 µl
30 µl is the recommended minimum flush volume, smaller flush volumes can be programmed, but will result in decreasing performance.

µl Pick-up offers **zero sample loss,** maximum accuracy (same as partial loop fill), but slightly less reproducibility: RSD better than 1% for injection volumes > 10 µl.

5 µl of **AIR** is injected together with the sample, in case an air segment is selected in the System Settings.

Sometimes other combinations of syringe, loop and/or buffer are advised:

Injection volumes smaller than 5 µl:

Partial loop fill:

Preferably install a 20 µl sample loop to avoid loss of accuracy due to expansion of the loop content when switching from inject to load position prior to sample loading. Especially when working with high pressure (200 bar), this loss may be in the order of 0.1 - 0.5 µl for a 100 µl loop.

Note that the minimum sample loss in partial loop fill mode is 30 µl (recommended minimum flush volume) for the first injection and an additional 15 (always half the programmed flush volume) for additional injections from the same vial. If a wash between injections has been programmed, sample loss is 30 µl for every injection. For zero sample loss injections, use the µl-pick injection mode.

µl Pick-up:

Do not install a smaller sample loop!

The sample plug is transported into the loop, preceded by a programmable air segment of 5 µl, with a plug of transport liquid, which equals 2.5 times the programmed needle tubing volume. The 20 µl loop is too small to guarantee quantitative injection.

Injection volumes up to twice the standard:

With the standard 250 µl syringe, standard needle with tubing (15 µl) and standard 500 µl buffer, but with a 200 µl sample loop, the maximum injection volumes are:

Full loop:	200 µl	Sample loss remains 230 µl since loops > 100 µl need only one loop volume overfill
Partial loop fill:	100 µl	
µl Pick-up:	77 µl	

Smaller volumes than 10 µl may be injected, but reproducibility and accuracy may not be < 0.5% for partial loop fill or < 1% for µl pick-up!

For volumes larger than 200 µl:

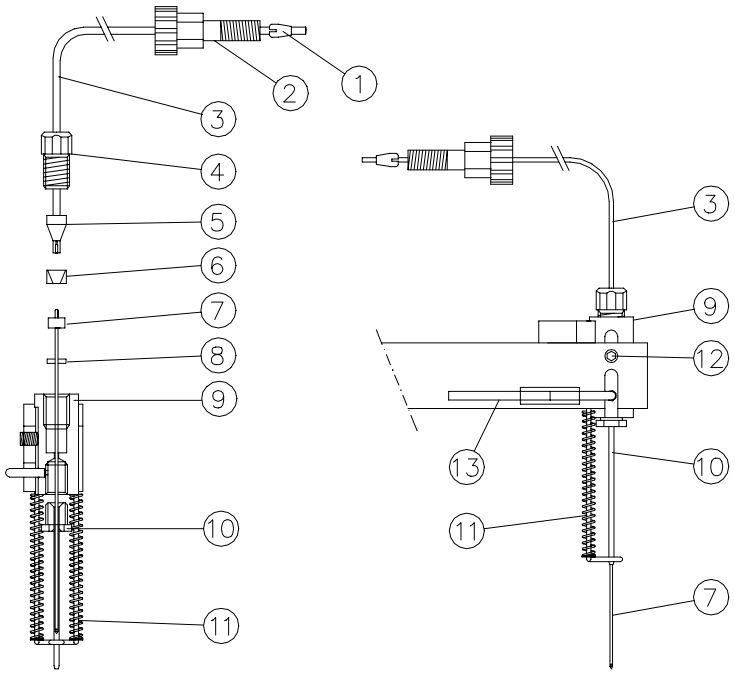
Install the 2000 µl buffer; install the appropriate sample loop size and the appropriate syringe: Syringe volume > 2 x injection volume. Injection volumes larger than 500 µl are possible, but the sample may contaminate the syringe. Program sufficient wash after use!

Buffer tubing:

Table 7: Syringe and buffer tubing.

Syringe	Buffer tubing
250 µl	500 µl buffer tubing
1000 µl	2000 µl buffer tubing

Sample needle



1	Ferrule	9	Needle holder
2	Nut	10	Air needle
3	Tefzel tubing	11	Vial sensor
4	Needle connection nut	12	Needle penetration depth adjustment screw
5	Ferrule (PTFE)		
6	Conical ring	13	Air tubing to provide headspace pressure
7	Sample needle		
8	Silicon air seal		

Fig. 44: Sample needle

Sample needle replacement

To replace the sample needle proceed as follows (see Fig. 44):

- Open keyboard cover.
- Place the sample needle in the front position, press **<MAINTENANCE>, <NDL-HOR>.**
- Loosen needle connection nut (4) that fixates the sample needle (7).
- Loosen the nut (1) that connects the PTFE tubing (3) to the injection valve.
- Remove sample needle by pulling it out of its fitting with the PTFE tubing that usually sticks to the needle.
- Put in a new needle assembly, watch the air seal (6) is around the needle.
- Tighten the needle assembly with needle connection nut (4),
- Connect loose end of needle connection tubing to port 4 of injection valve.

☞ **Do not tighten excessively; it may block the tubing!**

- Place the sample needle back in the home position and leave the maintenance mode, press **<NDL HOME>** and **[Escape].**

- Check the needle penetration depth, see below and adjust if necessary.
- Perform a wash routine to clean the new needle by pressing **<WASH>**

Air needle replacement

To replace the air needle proceed as follows (see Fig. 44):

- Remove sample needle as described.
- Remove air needle (10) and install new air needle.
- Reinstall sample needle as described.

Sample needle penetration depth

To keep rest volume small, the sample needle should stop close to the bottom of the sample vial. If the needle penetration depth needs adjustment, proceed as follows (see Fig. 45):

- Open keyboard cover.
- Place an uncapped sample vial in position 2 of the tray.
- Lower the sample needle in the vial, therefore:
  Program a method with a full loop injection and an analysis time of at least 10 seconds.
  Program a Series with the programmed method and vial 2 as first and last vial.
  Start the Series.
  As soon as the sample needle has entered the vial, switch of the power supply.
- Loosen adjustment screw one turn (counter clockwise).
- Use the needle connection nut (4) as a grip, adjust needle penetration depth.
  Needle should stop not less than 1 mm above the bottom of a standard vial and not less than 2 mm above the bottom of a conical vial.
- Fasten adjustment screw (clockwise).
- Re-apply the power, the AS 3900 will initialize and is ready for use.

Syringe

The AS 3900 is factory equipped with a 250 µl syringe, but can also be equipped with a 1000 µl syringe.

To install another syringe proceed as follows:

Do not disconnect the power supply of the AS 3900, it is needed to move the syringe!

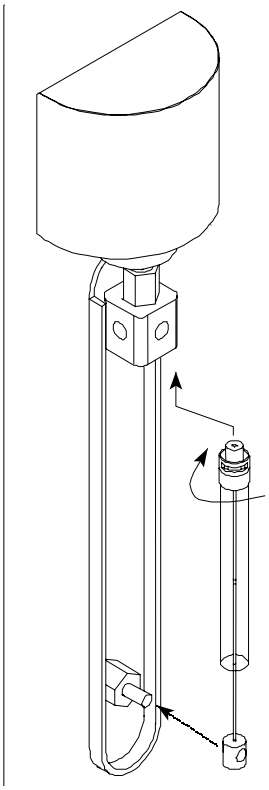


Fig. 46: Changing the syringe

- Press **<MAINTENANCE>** to get access to the maintenance function for moving the syringe
- Move the syringe to the end position by pressing **<SYR END>**.
- Unscrew the syringe from syringe valve; be sure that the Luer connector in the valve remains in place.
- Disconnect the plunger from the syringe drive.
- Fill the new syringe with wash solvent, be sure most air bubbles are removed from the syringe.
- Connect the plunger of the filled syringe to the syringe drive and connect the syringe with the Luer connector at the syringe valve.
- Screw the syringe firmly into the Luer connector.
- Remove the air from the syringe by pressing **<SYR HOME>.** The syringe will move to its **HOME** position and dispense its contents to the syringe waste.
- If some air remains in the syringe press **<SYR END>** again. The syringe is filled with wash solvent.
  Press **<SYR HOME>** to dispense the wash solvent to waste. If there is still air in the syringe, repeat the previous action and tick softly against the syringe as the wash solvent is dispensed to the syringe waste.
- Leave the maintenance screen by pressing **[Escape]** and press **<WASH>** to perform a standard wash routine. All tubing connected to the syringe valve will be refilled and flushed.

The AS 3900 is now ready for use

Troubleshooting

Start up problems

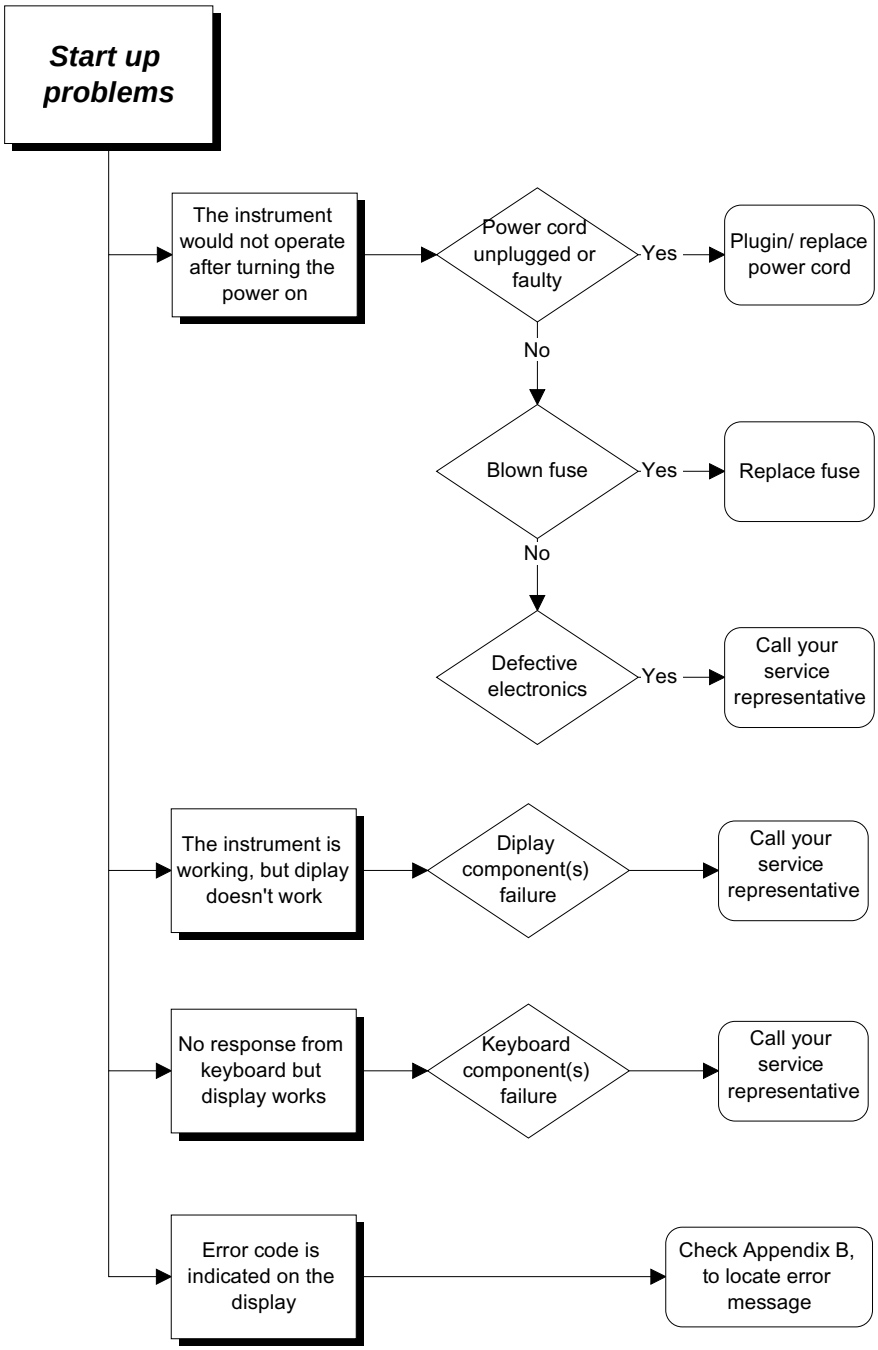


Fig. 47: Start up problems

Analytical problems

In cases of analytical problems the best thing to start with is to determine, if the cause for the problem is in the autosampler, or in the rest of the system.

Quick check!

Replace the valve by a manual injection valve to discriminate between valve problems and other problems.

Perform some manual Full loop injections. If the results are fine the fault has to be found in the autosampler, if not the HPLC system should be checked.

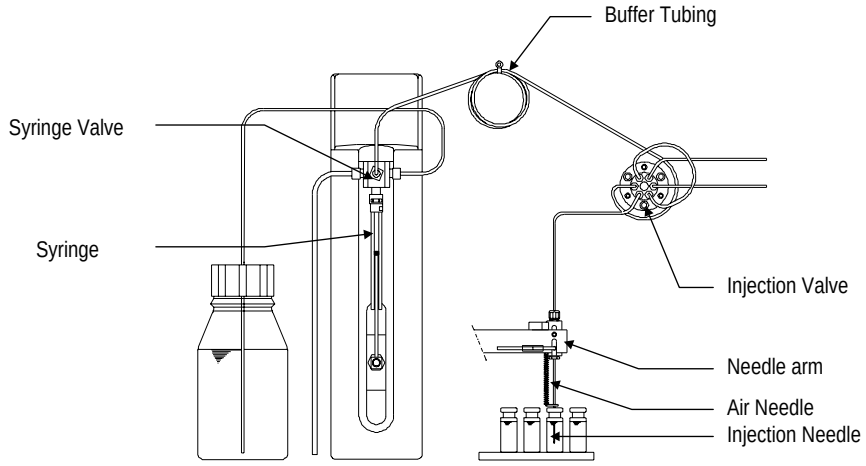


Fig. 48: Troubleshooting: AS 3900 flow path.

In the diagrams on the next pages (Fig. 49 and Fig. 50) it is assumed that the unit is working without Errors.

Please keep in mind that analytical also might be caused by external influences, like temperature and or light sensitive samples. For this reason it is important to be sure the application was running without problems before and nothing is changed.

No injection

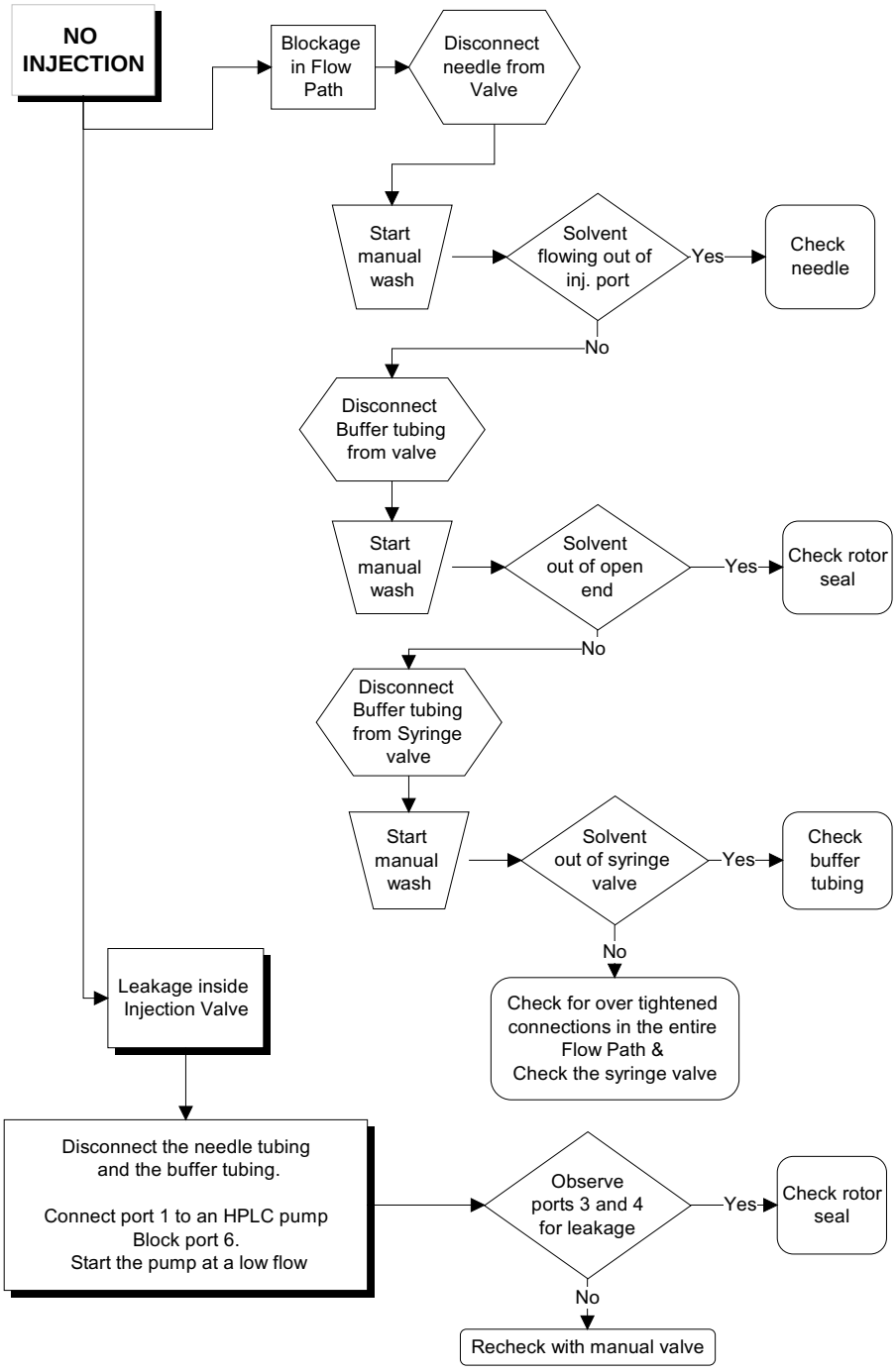

NO INJECTION
Blockage in Flow Path
Disconnect needle from Valve
Start manual wash
Solvent flowing out of inj. port
Yes
Check needle
No
Disconnect Buffer tubing from valve
Start manual wash
Solvent out of open end
Yes
Check rotor seal
No
Disconnect Buffer tubing from Syringe valve
Start manual wash
Solvent out of syringe valve
Yes
Check buffer tubing
No
Check for over tightened connections in the entire Flow Path & Check the syringe valve
Leakage inside Injection Valve
Disconnect the needle tubing and the buffer tubing.
Connect port 1 to an HPLC pump Block port 6.
Start the pump at a low flow
Observe ports 3 and 4 for leakage
Yes
Check rotor seal
No
Recheck with manual valve

Fig. 49:

Bad reproducibility

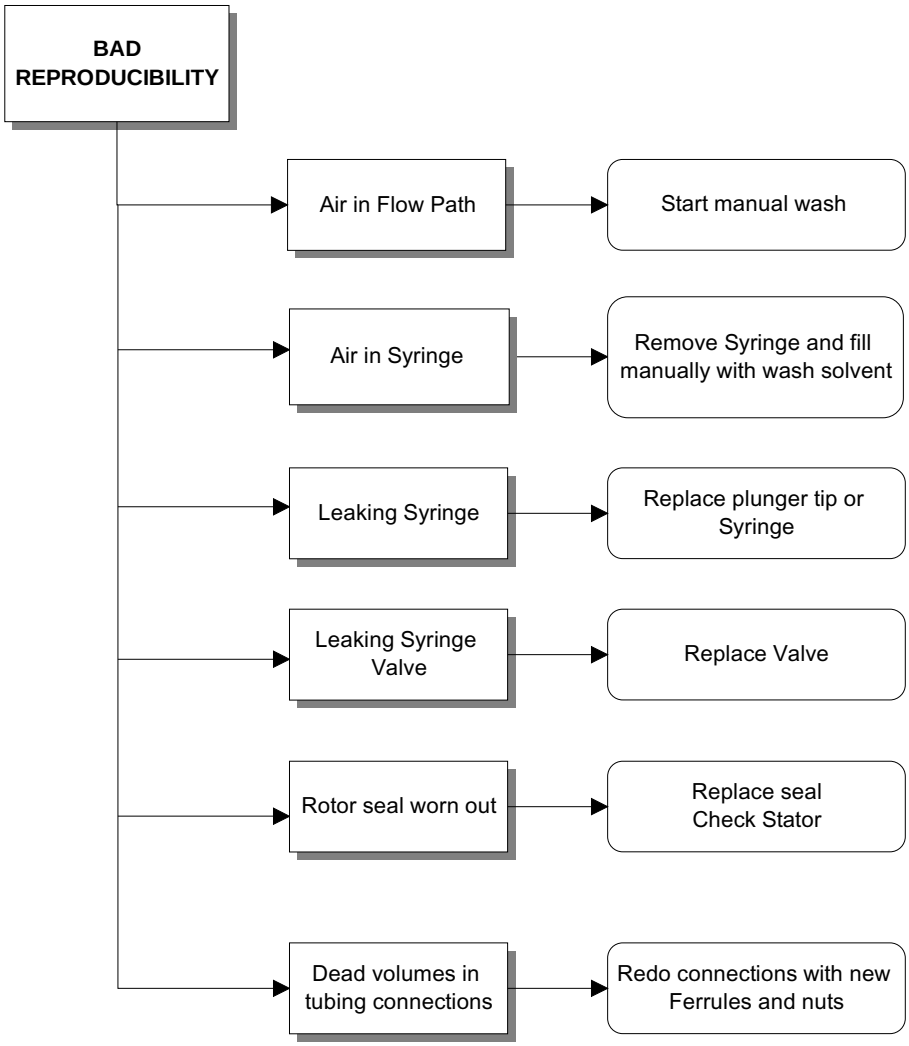

BAD REPRODUCIBILITY
Air in Flow Path
Start manual wash
Air in Syringe
Remove Syringe and fill manually with wash solvent
Leaking Syringe
Replace plunger tip or Syringe
Leaking Syringe Valve
Replace Valve
Rotor seal worn out
Replace seal Check Stator
Dead volumes in tubing connections
Redo connections with new Ferrules and nuts

Fig. 50:

APPENDIX A: List of Accessories

Article no.	Description
0830.834	Large capacity tray option, 96 position for 1.5 ml vials (12 mm OD)
0830.835	Large volume tray option, 24 position for 10 ml vials (22 mm OD), with 1 ml syringe and LSV needle
0830.836	Prep option (field installable), including software, large capacity tray, 2.5 ml syringe and large bore Valco injection valve with 10 ml sample loop
0830.766	Smartline AS 3900 PC control, including CD-ROM, hardware protection key and PC serial interface cable.
0700.010	Flanged-tube fitting 1/8” (pck/5)
0700.011	Flanged-tube fitting 1/16” (pck/5)
0830.718	Air needle (incl. seal)
0830.303	Sample needle
0830.304	Serum sample needle
0830.318	Silc/steel sample needle
0830.711	Air needle for serum needle
0900.710	Buffer tubing 500 µl
0900.711	Buffer tubing 2000 µl
0900.712	Syringe waste tubing
0900.713	Syringe wash tubing
0830.811	Inject marker cable
0830.733	Valco injection valve, stainless steel version, C2-2006 SPHMI, incl. bayonet pins.
0830.734	Valco injection valve, PEEK version, C2-2346 SPHMI, incl. bayonet pins.
3796.043	Valco rotor seal for injection valve C2-2006
3796.044	Valco stator for injection valve C2-2006
3796.048	Valco rotor seal PEEK for injection valve C2-2346
3796.087	Valco PEEK stator for injection valve C2-2346
0700.004	Valco Ferrule (pck/10)
0700.005	Valco Nut (pck/10)
3796.046	Valco loop 5 µl with fittings
3796.029	Valco loop 20 µl with fittings
3796.030	Valco loop 200 µl with fittings
3796.086	Valco loop 100 µl with fittings
3796.031	Valco loop 500 µl with fittings
3796.088	Valco loop 20 µl PEEK with fittings
3796.085	Valco loop 100 µl PEEK with fittings
3796.083	Valco finger tight nut PEEK
3796.084	Valco Ferrule PEEK
0830.731	Rheodyne 7739 injection valve, stainless steel version, incl. bayonet pins.
0830.732	Rheodyne 9740 injection valve, PEEK/ceramic version, incl. bayonet pins.
3796.035	Rheodyne loop 5 µl
3796.009	Rheodyne loop 10 µl
3796.010	Rheodyne loop 20 µl
3796.011	Rheodyne loop 50 µl

Article no.	Description
3796.012	Rheodyne loop 100 µl
3796.013	Rheodyne loop 200 µl
3796.014	Rheodyne loop 500 µl
3796.015	Rheodyne loop 1000 µl
3796.076	Rheodyne loop 20 µl PEEK
3796.016	Rheodyne loop 100 µl PEEK
3796.091	Stator for Rheodyne 7739 injection valve
3796.092	Vespel rotor seal for Rheodyne 7739 injection valve
3796.093	Tefzel rotor seal for Rheodyne 7739 injection valve
3796.095	PEEK stator for Rheodyne 9740 injection valve
3796.096	Ceramic stator face for Rheodyne 9740 injection valve
3796.097	PEEK rotor seal for Rheodyne 9740 injection valve
3796.045	Socket wrench for 1/16”nut
2140.151	Syringe valve
2140.160	Luer lock connector syringe valve
4400.250	250 µl syringe
4400.000	1000 µl syringe
0900.742	Plunger replacement tip for 250 µl syringe (pck/10)
0700.019	Plunger replacement kit for 1000 µl syringe (pck/10)
	Vials, seals and caps
0788.751	Standard clear crimptop 2-CV vial (pck/200)
0788.752	Crimpcap for standard 2-CV and 1.1-CTVG vials. (pck/1000)
0788.756	Chromacol 1.1-CTVG conical vial with crimptop. (pck/100)
0788.757	Chromacol TTS-312 supports for 1.1-CTVG vial. (pck/100)
0788.761	Standard screwtop 2-SV vial. (pck/100)
0788.762	Screwcap for standard 2-SV vial. (pck/100)
0788.763	Septum for standard 2-SV vial. (pck/100)
0900.750	Chromacol 10-CV, 10 ml vial. (pck/125)
0900.751	Chromacol 20-ACB crimpcap for 10-CV vial. (pck/125)
0900.752	Chromacol 20-ST101 seal for 10-CV vial. (pck/125)
3760.403	Handcrimper 11 mm OD vials (standard).
3760.411	Handcrimper 20 mm OD vials.

APPENDIX B: Error Codes

Injection valve

ERROR 211	Injection valve is not in a valid position.
ERROR 212	The injection valve did not switch within 1.5 seconds.
ERROR 213	The switching time of the injection valve exceeds 500 msec

Syringe dispenser unit

ERROR 221	The syringe valve did not switch.
ERROR 222	The syringe did not reach the home position within time.
ERROR 223	The syringe spindle did not make the correct number of rotations.
ERROR 224	The spindle does not rotate.
ERROR 225	The syringe valve did not find a valid position.

Injection needle unit

ERROR 230	The sample needle arm did not reach or leave the home position (vertical).
ERROR 231	The sample needle arm is in an invalid horizontal position while moving down.
ERROR 232	The sample needle arm did not reach its destination within a certain time (horizontal).
ERROR 233	Too many or not enough steps needed to reach destination of horizontal needle movement.
ERROR 234	Sample needle arm not in vertical home position while moving horizontally.
ERROR 235	The sample needle arm is at an invalid horizontal position
ERROR 237	The sample tray is not at a valid position while moving the sample needle arm down.
ERROR 239	Vial sensor sticks.

Tray unit

ERROR 251	Incorrect tray rotation
ERROR 252	No sample tray positioned in the AS 3900.
ERROR 253	The sample needle arm is not in the home position while rotating the tray.

Vials

ERROR 260	Missing vial. *Only available when Skip Missing Vial is set to **NO** in the System Settings (see page 34) and during the execution of the Mix of a method.*
ERROR 262	Missing transport vial. *Only available when Skip Missing Vial is set to **NO** in the System Settings (see page 34).*
ERROR 264	Missing vial for reagent A
ERROR 265	Missing vial for reagent B
ERROR 268	Missing destination vial.
ERROR 269	Not enough transport liquid available due to missing transport vials.
ERROR 270	Not enough reagent A available.
ERROR 271	Not enough reagent B available.

Electronics

ERROR 275	Error occurred during initialization, the AS 3900 can not start.

APPENDIX C: Test Procedure

Introduction

The precision and reproducibility of a HPLC system crucially depends on the quality and dependability of the separation. One of the important functions is reliable extraction of value products.

For the above reasons, it is important to regularly make sure that the detector is functioning properly. The following instructions explain how to carry out the respective tests.

If the AS 3900 does not fulfil the required specifications while running the inspection then it must be marked as defective and cannot be used for further analysis. The autosampler can be used for further analysis only after service or repair together with the certificate stating that the required specifications have been fulfilled (see page 71).

Defining the Inspection Intervals

The routine functional and technical specification inspections have to be carried out in timed intervals according to how frequent the instrument is used. The following time intervals have been defined:

Average use per day up to 5 days per week:	every 6 months
Frequent use, meaning day and night or more than 5 days per week:	every 3 months
Operation with buffer solution or other salt solutions:	every 3 months.

Required Materials

Eluent:	Deionised water (HPLC quality) The eluent must be degassed in order to avoid functioning defects caused by air bubbles.
Test solution:	50 ppm uracil dissolved in deionised water (HPLC quality)
Wash solution:	Water : i-propanol 8:2 (HPLC quality)

HPLC Pump

A restriction capillary to build up a minimum pressure of 15 bar at a 1ml/min flow rate

UV detector (measuring cell: 10 mm or smaller path length)

Recorder, integrator, or chromatography software (data rate: min. 5 Hz).

The above components should be configured as described in Fig. 51:

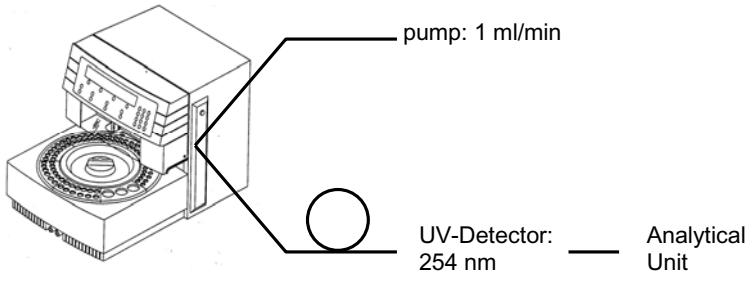


Fig. 51: Test unit

Inspecting the AS 3900

Specification Test

A system containing the above mentioned components is built together for all tests. The defaults for the 3900 Autosampler are according to the analytical standard version. The autosampler comes with a100 µl sample loop and a 250 µl syringe. The bottle for the wash solution on the autosampler is filled with 80% water and 20% isopropanol.

1. Sample Volume Reproducibility

For the sample volume reproducibility the prepared uracil solution (50 ppm) is injected again with an injection volume of 10 µl.

Set the following system parameters on the AS 3900:

System Settings/Adjustments:

Loop volume:	100µl (standard design)
Needle tube volume:	15 µl
Syringe volume:	250 µl
Dispenser speed:	normal
Skip missing vial:	yes
Head space pressure:	yes

Program the following methods and series on the autosampler:

Method 1

Injection mode:	Partial loop fill
Flush volume:	30 µl
Injections/vial:	9
Inj. volume:	10 µl
Analysis time:	1 min
Wash:	None

Series 1

Method number:	1
Calibration vial:	No
First sample vial:	01
Last sample vial:	01

Analytical Parameters:

Flow rate:	1 ml/min
UV detector wavelength:	254 nm

Set the 1 vial, filled with 500 µl of sample solution, in the 3900's sample tray to position 1. Start the method series that was programmed on the autosampler. With each injection 10 µl is injected. This is repeated 9 times. A chromatogram similar to Fig. 52 should result.

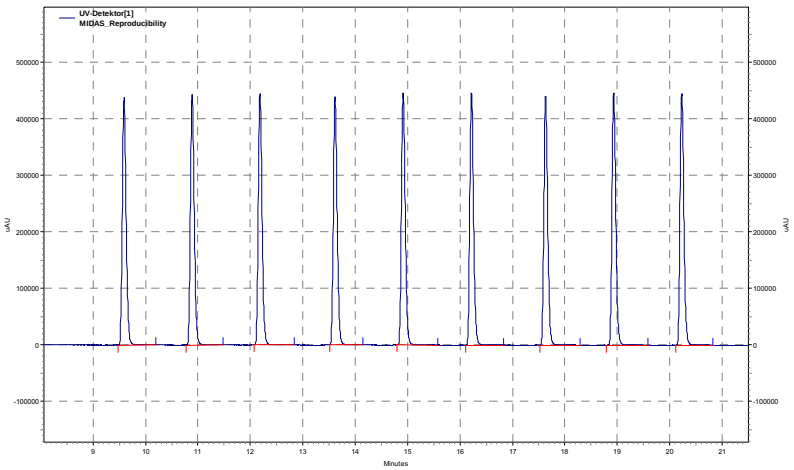


Fig. 52: Sample volume reproducibility

The mean of the integrated peak area is developed. Accordingly, the variation coefficient VK1 is calculated. The calculation can be made using the following formulas:

$$\overline{Peakareas} = \frac{\sum_{i=1}^{n} Peakareas_i}{n}$$

(mean)

$$\sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{\sum (Peakarea_i - \overline{Peakareas})^2}{n-1}}$$, whereby i = 1 - 9

(standard deviation)

$$VK_1 [\%] = \frac{\sigma_{n-1}}{peakarea} \times 100$$

(variation coefficient)

The variation coefficient should be VK = 0.5%.

Record the results on the test report form.

2. Sample Carry-Over Percent

The system settings and the analytical parameters are determined as explained in test 1.

To determine the sample carry-over percent, 10 µl of sample solution (vial position 1) is alternately injected with 10 µl eluent (vial position 2) from vials 1 and 2.

In order to do this a method (no. 2) and 3 series (no. 2-4) must be programmed. Take into consideration that the wash function for the injection needle must be activated in between injections.

Program the following methods and series on the autosampler:

Method 2

Injection mode:	Partial loop fill
Flush volume:	30 µl
Injections/vial:	1
Inj. volume:	10 µl
Analysis time:	1 min
Wash:	Yes

Series 2 to 4

Method number:	2
Calibration vial:	No
First sample vial:	01
Last sample vial:	02

Due to the fact that the eluent is injected from vial 2, only a very small peak or no peak at all should be seen. A chromatogram as illustrated in Fig. 53 will result.

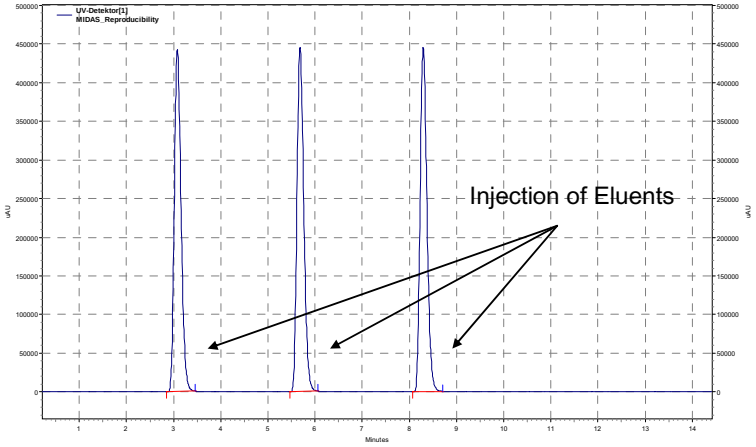


Fig. 53: Sample Carry-Over Test

The respective determined peak areas (the mean) for the eluent injection are put into a ratio of the uracil peak areas. The sample carry-over percent PV can be calculated with the following equation:

$$PV\ [\%] = \frac{\sum_i \frac{Peakarea_{i\ Eluent}}{3}}{\sum_i \frac{Peakarea_{i\ Testsolution}}{3}} \times 100 \quad \text{(Sample carry-over)}$$

The sample carry-over percent PV should equal 0.3%.

Record the results on the test report form.

3. Linearity

The system settings and analytical parameters are determined as explained in test 1.

10, 20, 30, 40 und 50 µl of the uracil test solution are injected three times each from vial 1. In order to do this 5 different methods with different injection volumes must be programmed. The 5 methods are to be used in series 5-9. Make sure that there is sufficient test solution in vial 1 (minimum 800 µl).

Program the following methods and series on the autosampler:

Method 3-7

Injection mode:	Partial loop fill
Flush volume:	30 µl
Injections/vial:	3
Inj. volume:	10 µl (20, 30, 40, 50 µl)
Analysis time:	1 min
Wash:	None

Series 5-9

Method number:	3 (-7)
Calibration vial:	No
First sample vial:	01
Last sample vial:	01

Series 5-9 are carried one after the other. A chromatogram similar to Fig. 54will result.

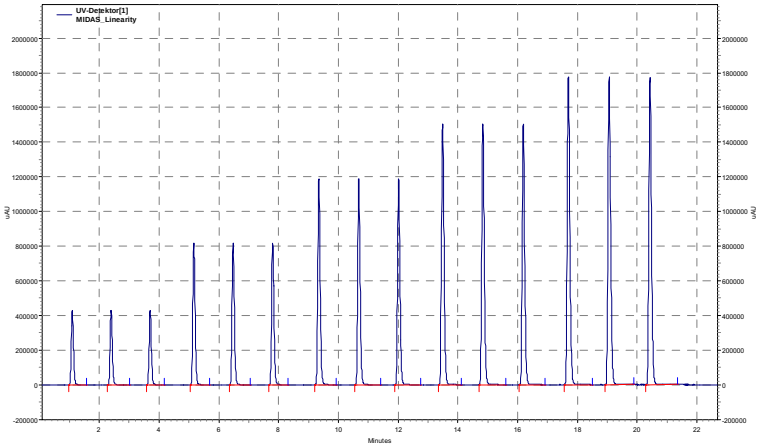


Fig. 54: Linearity Test

For evaluation, the correlation coefficient r of the regression lines are determined from the peak's measured values and the injection volumes using the following equation:

$$r = \frac{\sum x_i y_i - n\bar{x}\bar{y}}{\sqrt{\left(\sum x_i^2 - n\bar{x}^2\right)\left(\sum y_i^2 - n\bar{y}^2\right)}}$$ (correlation coefficient)

yi Y value from measured value i (injection volume)

xi X value from measured value i (peak area)

$\bar{y}$ Mean of Y over all n measured values

$\bar{x}$ Mean of X over all n measured values

n Number of paired measured values

The correlation coefficient r should be ≥ 0.998.

Record the results on the test report form.

4 Mixture Test

The mixture test can only be mode with the 3900 standard tray <84+3>. A mixing program cannot be carried out with any of the other 3900 autosampler trays because they do not have the reagent A/B position.

The system settings and analytical parameters are determined as explained on page 65.

For the mixture test, set the following sample vials in the autosampler tray: one sample vial (vial pos. 1) filled with test solution, an empty vial (destination vial pos. 2), and one eluent filled reagent vial.

The autosampler must be programmed so that a 1:10 dilution of the sample is produced in the empty vial. Due to the fact that a maximum of 9 methods and 9 series can be programmed and saved, the methods and series must be overwritten.

After the dilution is completed, 10 µl is taken from both sample vials and injected three times each.

Program the following methods and series on the autosampler:

Method 1:

Injection mode:	Partial loop fill
Flush volume:	30 µl
No. of inj./vial:	3
Injection volume:	10 µl
Analysis time:	0:01:00
Wash between:	No

Method 2:

Injection mode:	Partial loop fill
Flush volume:	30 µl
No. of inj./vial:	3
Injection volume:	10 µl
Analysis time:	0:01:00
Wash between:	No

1) Add 90 µl Reag-A to DESTINATION
2) Add 90 µl Reag-A to DESTINATION
3) Add 40µl SAMPLE to DESTINATION
4) Add 90 µl Reag-A to DESTINATION
5) Add 90 µl Reag-A to DESTINATION
MIX 3 times with 250 µl
END OF MIX METHOD

Series 1:

Method:	1
First vial:	01
Last vial:	01

Series 2:

Method:	2
First vial:	01
Last vial:	01
Destination vial:	02

After measurement is completed, a chromatogram similar to Fig. 55 should result.

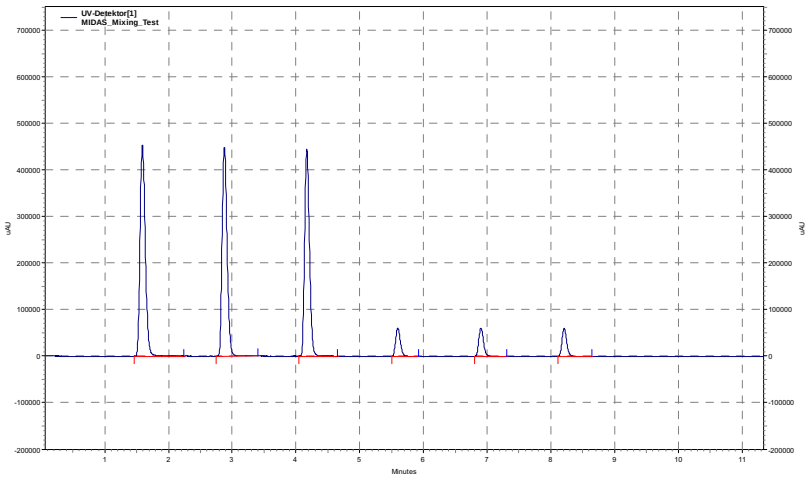


Fig. 55: Mixture Test

The measuring value's mean (peak area) is developed for each vial and the variation coefficient (VK2/3) is determined for both vials (see calculation point 1).

The dilution factor F10 is determined from the ratio of the original sample's peak areas mean and the dilution.

The variation coefficient VK2 for the 1. vial (sample) should be = 0.5%.

The variation coefficient VK3 for the 2. vial (dilution) should be = 0.5%.

The dilution factor F10 should be within the following range:
9.85 < x > 10.25.

Record the results on the test report form.

Documentation and Archive

The results are recorded for each test on the test report form. Additionally, the instrument number (i.e. serial number or inventory number) of the instrument inspected, date of the inspection, date of the next inspection, and name of the inspector are entered on the test report form. The test report form is then chronologically filed in the instrument log book.

If the instrument passed the inspection and fulfilled the specifications, then it is provided with a sticker or tag (a green label). The label has the instrument number, date of inspection, date of the next inspection, and name of the inspector on it.

If the instrument did not pass the inspection and did not fulfil the specifications then the instrument is given a sticker or tag (a red label with a DEFECT label). This label has the instrument number, date of the inspection, and the name of the inspector. The instrument may not be operated until the required maintenance or repair has been made and the specifications are met.

All instrument inspection documents (instructions and test reports) are quality assurance system regulations that are archived.

The manufacturer archives documents, manuals, service manuals, service information, and part lists that are available for reference.

TEST REPORT

Module:	Autosampler
Type: 3900	Analytical ☐ Cool ☐ Bio ☐
Instrument number:	

Function Test

No.	Test	Settings	Specifications	Results
1	Reproducibility	10 µl test solution from 6 glass vials, each one is injected 3 times.	VK_1: = 0.5%	
2	Carry-over	10 µl of the test solution and eluent in alternately injected 3 times.	PV: = 0.3%	
3	Linearity	10, 20, 30, 40, and 50 µl of the test solution are injected 3 times each.	r: $\geq$ 0.998	
4*	Mixture Test	10 µl of the test solution and one of the 1:10 Autosampler dilutions are injected 3 times each.	VK_2: = 0.5% VK_3: = 0.5% F_{10} 9.85 < x > 10.25	

* Only for the AS 3900 with a <84 + 3> sample tray.

Date: .....

Next inspection on: .....

Inspector: ..... Signature: ……

APPENDIX D: AS 3900, Preparative

By just choosing PREP in your system settings, you can use the AS 3900 to inject all of your samples into a Preparative LC system or in other areas where large injection volumes are required. Also in combination with the PROSPEKT On-line Solid Phase Extraction System, the AS 3900 can be your ideal autosampler.

The combination of large sample vials (10 ml) a large sample volume needle and a 2.5 ml syringe enables you to inject large volumes very reproducible with high speeds and only 45 µl of sample loss. The installed large bore valve (0.75 mm) with 10 ml sample loop enables you to inject from microliters to milliliters with the same autosampler. Flow rates up to 200 ml per minute are no problem for the autosampler AS 3900, used in Prep mode.

If the Prep option is factory installed the part on installation can be skipped.

If the Prep option is bought as a kit, carry out the installation instructions.

Specifications AS 3900, prep

The Specifications of the AS 3900, prep differ in some ways from the standard autosampler AS 3900. The different specifications are listed below.

SAMPLING	
Sample capacity	LSV tray: 24 vials of 10 ml (LSV)
Loop volume	Not programmable, injection volume determines the aspirated sample volume
Dispenser syringe	2500 µl syringe
ANALYTICAL PERFORMANCE	
Reproducibility	RSD <= 1.0% for partial loop fill injections, injection volumes >10 µl up to 50% of the installed sample loop.
Memory effect	< 0.1% with programmable needle wash
PROGRAMMING	
Methods	9 programmable methods
Injection method	Partial loop fill only
Injection volume	1 µl – 19,999 µl, with 1 µl increment
Mix	Not available
OPTIONS	
Bio-compatible valve	Not available

Installation AS 3900, prep

To install the Prep option on the standard AS 3900 perform the following installation steps:

- When the Firmware revision is lower than V2.00, then first replace the EPROM with the one supplied in the shipkit before you continue with the next steps, see section Firmware replacement
- Replace the standard injection valve with the special AS 3900 Prep valve (VALCO #C2-3006 SPHMI); see page 47 for detailed information.
- Replace standard sample needle, air needle and buffer tubing with the ones supplied in the AS 3900 Prep kit. See page 54 for detailed information.
- Re-connect all tubing to the injection valve as described in section Fluid connections on page 22.
- Replace standard Syringe with the 2500 µl syringe; see section Syringe on page 55 for detailed information.
- Install the 24 vials (LSV) tray, see section Instrument Description on page 13 detailed information how to place the sample tray in the autosampler AS 3900.
- Choose Prep Mode in system settings, see section Prep Mode System Settings on page 37.

Table 8: Tubing of the AS 3900 Prep option.

Tubing	Material and dimensions	Label
LSV sample needle and tubing.	SS tubing; 70mm x 0.81mm OD x 051 mm ID Tefzel tubing; 155 mm x $^{1}/_{16}$" OD x 0.50 mm ID	45 µl
Buffer tubing from high pressure valve to syringe valve.	PTFE tubing; 2550 mm x $^{1}/_{16}$" OD x 1.0 mm ID	2000 µl

Injecting with the AS 3900, prep

The injection routine differs from the standard autosampler AS 3900. The AS 3900, prep has only the Partial loop fill injection routine, which differs from the partial loop fill injection routine of the standard autosampler.

Therefore some remarks, which explain the difference and make sure your have the best injection performance.

Ensure that the programmed injection volume does not exceed the 50% of the loop volume, otherwise the reproducibility and accuracy of the injection can not be guaranteed.

The software does not check the injection volume with the installed loop volume. It is therefore possible to program injection volumes larger than 50% of the loop volume.

The preflush is no longer executed, expansion of the liquid in the sample loop will remove sample from the sample tubing and needle when switching from INJECT to LOAD. To compensate for the volume of the needle and tubing, an additional amount of the sample, equal to the programmed sample needle – tubing volume (default 45 µl) is aspirated in the sample loop together with the programmed sample volume.

Firmware replacement

The firmware of the AS 3900 is stored in an EPROM, which is located on the CPU Board.

ATTENTION:
The EPROM is highly sensitive for Electro Static Discharges. Observe precautions for handling Electro Static Discharge sensitive devices.

For replacement of this EPROM proceed as follows:

- Make a notice of all the programmed Methods, Series and System Settings
- Turn main power OFF
- Remove the 4 screws marked (A).
- Open the rear panel
- Remove the old EPROM and place the new EPROM on the CPU Board.

Make sure all pins of the EPROM are placed in the IC-socket.

- Check all System Settings after placing the new EPROM

The little notch on the top of the EPROM should be facing the same way as the notch on the IC-socket.

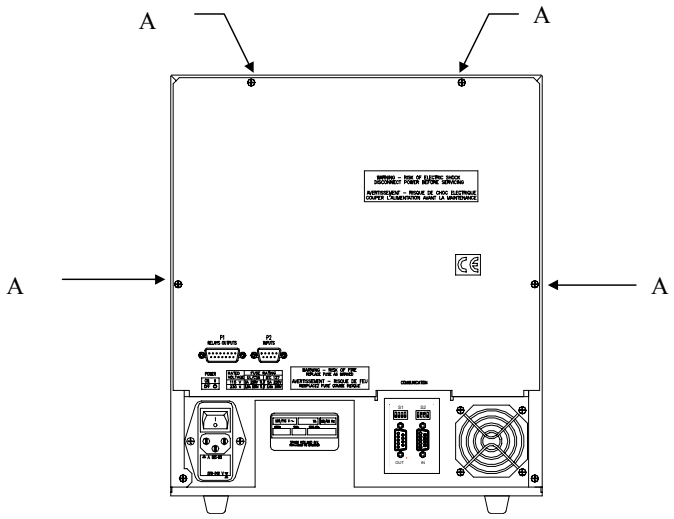


Fig. 56: Rear side of the autosampler AS 3900

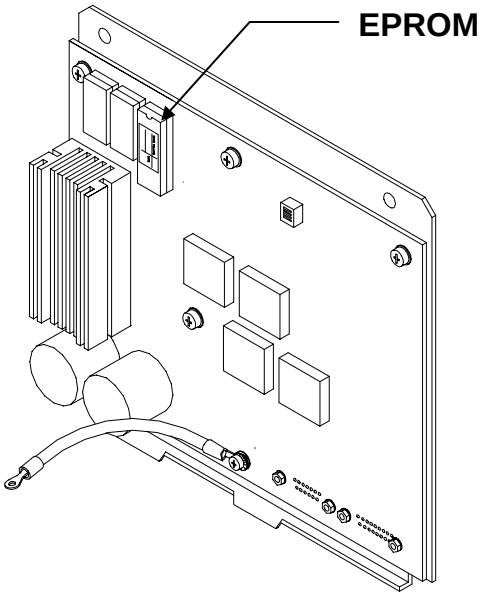


Fig. 57: Placing the EPROM of AS 3900

Technical Data

Sample Handling	
Standard tray:	84 sample vials of 1.8 ml plus 3 vials of 10 ml for additional liquids
optional:	96 vials of 1.8 ml;
Preparative tray:	24 sample vials of 10 ml
Cool option:	4-15 ± 2°C
Injection Volume	
standard sample loop:	20 µl, other sizes available 1 µl – 5,000 µl in 1 µl increments
partial loopfill:	1µl – 50% of installed sample loop
µL pick-up:	max. 2477 µl
Injections per Vial:	max. 9
Analysis Time:	max. 9hr 59min 59 sec
Needle Wash:	programmable
Headspace Pressure:	approx. 0.05 MPa (built-in compressor)
Injection Valve	
standard:	stainless steel
Bio option:	PEEK
switching time:	less than 100 ms
Precision	
flushed loop injection:	RSD < 0.3%
partial loopfill injection:	RSD < 0.5%
µL pick-up:	RSD<=1.0%
Carryover	less than 0.2% (when needle wash enabled)
Outputs	inject marker (NO/NC contact, TTL), stop I/O (TTL), vial number BCD (TTL), two time-programmable external events (open collector, both also present in inverted mode); 24V DC power supply (0.5 A max.)
Inputs	next injection, next vial, freeze runtime, stop I/O (all are TTL); serial interface RS-232
Display	graphical LCD with keypad
Power Supply	115 / 230 V, 50 / 60 Hz
Dimensions	300 x 340 x 500 mm (W x H x D)
Weight	19.0 kg (Cool 22.0 kg)

Hinweise zum Gebrauch des Handbuchs

Konventionen in diesem Handbuch

Besondere Warnhinweise und Hinweise auf mögliche Probleme sind mit dem Warnsymbol gekennzeichnet.

Ein nützlicher Tipp wird in der Marginalspalte durch das Symbol hervorgehoben.

Wichtige Hinweise werden in der Marginalspalte durch das Hinweissymbol kenntlich gemacht.

Die Bezüge zu Details in Abbildungen im Text dieses Handbuchs werden durch das Format wie z.B.: „*siehe Pos. {3} in Abb. 1 auf Seite 6*“ charakterisiert.

⇧ ⇨ ⇩ ⇦ Offene Pfeile, verwendet in Blockdiagrammen, symbolisieren einen automatischen Programmablauf ohne die Notwendigkeit einer manuellen Eingabe.

→ ↑ ← ↓ Pfeile, verwendet in Blockdiagrammen, bedeuten, dass der Anwender die entsprechende Pfeiltaste betätigen soll.

➢ ➢ ➢ ➢ Die Pfeilspitzen symbolisieren die Selbstdefinierende Verwendung der entsprechenden Pfeiltasten.

[Methods] Feste Funktionstasten erscheinen im Druckbild in eckigen Klammern

<WASH> Variable Funktionstasten werden zwischen spitzen Klammern beschrieben

Schnellstart des AS 3900

Dieses Kapitel soll Ihnen einen schnellen Start des AS 3900 ermöglichen. Es werden Schritt für Schritt Informationen gegeben von der Installation bis zur laufenden Analyse. Es macht Ihren AS 3900 in einem minimalen Zeitaufwand zu Ihrem Helfer im Labor.

Installation
(Detaillierte Information finden Sie ab Seite 94)

- Lassen Sie den AS 3900 sich mindestens eine Stunde an die Umgebungstemperatur anpassen
- Prüfen Sie den AS 3900 auf sichtbare Transportschäden. Treten Sie bei deren Feststellung unverzüglich mit Ihrem lokalen Händler in Verbindung.
- Entfernen Sie die Transportsicherungsschraube von der rechten Seite der Fronthaube.

Halten Sie die Fronthaube mit der Bedienungstastatur während des Betriebs geschlossen!

- Prüfen Sie die Sicherungen und die Spannungseinstellung an der Geräterückseite.
- Schließen Sie das Netzkabel an.
- Nach dem Einschalten des Gerätes erscheint der „Ready Screen“ und zeigt die Firmwareversionsnummer an.
- Verbinden Sie den Ableitungsschlauch mit dem rechten Ableitungsanschluss an der Front des Gerätes.
- Füllen Sie die Waschflasche mit destilliertem Wasser/i-Propanol (80/20) oder mit der vorgesehenen mobilen Phase. Es sollen nur Wasser und/oder organische Lösungsmittel benutzt werden. Verwenden Sie keine Pufferlösungen (Kristallisationsgefahr) die zu ernsthaften Schaden am Gerät führen können. Zur Vermeidung von Gasblasen in der Spritze verwenden Sie entgaste Waschlösungen.
- Füllen Sie das System mit Waschlösung, indem Sie es durch Drücken der <WASH> Funktionstaste (Ready Screen) 2- oder 3-mal waschen. Falls Luftblasen in der Spritze verbleiben entfernen Sie diese durch vorsichtiges Klopfen an den Spritzenkörper.
- Verbinden Sie Ihre HPLC Pumpe mit dem Port 1 des Injektions-ventils und die Säule mit dem Port 6. Prüfen Sie das System auf Undichtigkeiten und lassen Sie es zumindest 5 Minuten einlaufen.

Systemeinstellungen (Siehe Seite 108)

Normaler Weise sind die Systemeinstellungen korrekt vorgegeben. Um sie zu überprüfen verfahren Sie wie folgt:

Tastendruck:	Beschreibung:
[System]	Eingabe der Systemeinstellungen
<GENERAL>	Eingabe der Globalen Einstellungen
[0100] [Enter]	Volumen der installierten Probenschleife: 100 µl.
[015] [Enter]	Volumen des Schlauchs Nadel ↔ Ventil: 015 µl
<250> [Enter]	Spritzenvolumen: 250 µl
<NORMAL> [Enter]	Setzt die Spritzengeschwindigkeit Normal.
<YES> [Enter]	Überspringen fehlender Vials.
<YES> [Enter]	Luftsegment ist aktiv
<YES> [Enter]	Headspace Druck: aktiv

Drücken Sie **[Escape]** zweimal, um zurück zum „Ready Screen“ zu gelangen

Beispiel 1: 10 µl Injektion mit partieller Schleifenfüllung von Vial Nummer 1

Die Durchführung von Routineinjektionen ist mit dem AS 3900 einfach. Zuerst definieren Sie eine Methode, die Injektions-, Misch- und/oder Waschschritte enthalten kann. Diese Methoden werden im Gerät gespeichert. Danach kann eine Laufsequenz oder Serie programmiert werden in welchen die Methoden mit zugehörigen Vialbereichen verknüpft werden. Der AS 3900 kann dann diese Serien abarbeiten.

Methodenprogrammierung (Siehe Seite 112 dieses Handbuchs)

Injektionsprogramm:

Tastendruck:	Beschreibung:
[Methods] [1] [Enter]	Auswahl der Methode Nummer 1.
<INJECTION> <PARTIAL>	Auswahl der Injektion mit partieller
[Enter]	Schleifenfüllung
[30] [Enter]	Spülvolumen: z.B. 30 µl
[1] [Enter]	Anzahl der Injektionen pro Vial: 1
[10] [Enter]	Injektionsvolumen: 10 µl
[100] [Enter]	Eingabe der Analysenzeit: z.B. 1 Minute

Drücken Sie **[Escape]**, um in das vorgelagerte Menü zu kommen

Wash Programm:

Tastendruck:	Beschreibung:
<WASH>	Menüauswahl Wash Programm
<NONE>	Deaktivierung des Wash Programms

Drücken Sie **[Escape]** dreimal, um zurück zum „Ready Screen“ zu gelangen

Serienprogrammierung (Siehe Seite 117 dieses Handbuchs)

Tastendruck:	Beschreibung:
[Series] [1] [Enter]	Eingabe Seriennummer 1
[1] [Enter]	Eingabe Methodennummer:1
[1] [Enter]	Eingabe Erstes Probenvial: 01
[1] [Enter]	Eingabe Letztes Probenvial: 01

Drücken Sie **[Escape]** zweimal, um zurück zum „Ready Screen“ zu gelangen

Serienausführung (Siehe Seite 119 dieses Handbuchs)

Geben Sie ein Probenvial in die Position 1. (Ist die Position nicht zugänglich, können Sie den Probenteller von Hand drehen.).

Tastendruck:	Beschreibung:
[Start/Stop]	
[1] [Enter]	Start der Serie Nummer:1
[1] [Enter]	Stopp nach Serie Nummer:1

Nach dem Drücken von **<START>** sucht der AS 3900 das Vial 1und führt die 10 µl Injektion durch.

Beispiel 2: **Ausführung von drei 10 µl Injektionen aus einem Vial ohne Probenverlust durch Verwendung der µl Pick-up Injektionsroutine mit Durchführung einer Waschroutine nach jeder Injektion.**

Wenn das Luftsegment auf ON gesetzt ist, wird auch ein kleines Luftsegment in Ihr HPLC System injiziert. (Für Detailinformationen siehe Seite 119 dieses Handbuchs).

Zum Ausschalten (OFF) des Luftsegments ändern Sie in den Systemeinstellungen die Einstellung von ***YES*** auf ***NO***.
Drücken Sie hierfür die Tastenfolge:
[System] <GENERAL> [Enter] [Enter] [Enter] [Enter] [Enter] <NO> [Escape] [Escape]

Methodenprogrammierung (Siehe Seite 112 dieses Handbuchs)

Injektionsprogramm:

Tastendruck:	Beschreibung:
[Methods] [1] [Enter]	Auswahl der Methode Nummer 1.
<INJECTION> <PICK UP> [Enter]	Auswahl der Injektion mit µl Pick-up
[3] [Enter]	Anzahl der Injektionen pro Vial: 3
[10] [Enter]	Injektionsvolumen: 10 µl
[100] [Enter]	Eingabe der Analysenzeit: z.B. 1 Minute

Drücken Sie **[Escape]**, um in das vorgelagerte Menü zu kommen.

Wash Programm:

Tastendruck:	Beschreibung:
<WASH>	Menüauswahl Wash Programms
<INJECTION> [ENTER]	Wash Programm nach jeder Injektion
[1] [Enter]	Eingabe der Anzahl von Spritzenfüllungen je Waschprozess, z.B. 1 Spritzenfüllung.

Drücken Sie **[Escape]** dreimal, um zurück zum „Ready Screen“ zu gelangen

Serienprogrammierung (Siehe Seite 117 dieses Handbuchs)

Tastendruck:	Beschreibung:
[Series] [1] [Enter]	Eingabe Seriennummer 1
[1] [Enter]	Eingabe Methodennummer:1
[1] [Enter]	Eingabe Erstes Probenvial: 01
[1] [Enter]	Eingabe Letztes Probenvial: 01

Drücken Sie **[Escape]** zweimal, um zurück zum „Ready Screen“ zu gelangen

Serienausführung (Siehe Seite 119 dieses Handbuchs)

Geben Sie ein Probenvial in die Position 1 und ein Vial mit mobiler Phase in die Position 85.

Stellen Sie sicher, dass das Transportvial beim Start einer neuen Serie korrekt gefüllt ist.

Tastendruck:	Beschreibung:
[Start/Stop]	
[1] [Enter]	Start der Serie Nummer:1
[1] [Enter]	Stopp nach Serie Nummer:1

Nach dem Drücken von **<START>** sucht der AS 3900 das Vial 1und führt drei 10 µl Injektionen durch. Nach jeder Injektion wird die Nadel mit einer Spritzenfüllung gewaschen.

Beispiel 3: **Ausführung einer 1:10 Verdünnung gefolgt von einer 10 µl Injektionen mit partieller Schleifenfüllung von Vial Nummer 1**

Die Mischmethode wird wie folgt durchgeführt:

Überführe 360 µl von Reagenz A ins Zielvial, füge 40 µl Probe hinzu, mische 3-mal mit 250 µl und injiziere danach 10 µl.

Ausgehend vom „Ready Screen“:

Methodenprogrammierung (Siehe Seite 112 dieses Handbuchs)

Injektionsprogramm:

Tastendruck:	Beschreibung:
[Methods] [1] [Enter]	Auswahl der Methode Nummer 1.
<INJECTION> <PARTIAL> [Enter]	Auswahl der Injektion mit partieller Schleifenfüllung
[30] [Enter]	Spülvolumen: z.B. 30 µl
[1] [Enter]	Anzahl der Injektionen pro Vial: 1
[10] [Enter]	Injektionsvolumen: 10 µl
[100] [Enter]	Eingabe der Analysenzeit: z.B. 1 Minute

Drücken Sie **[Escape]**, um in das vorgelagerte Menü zu kommen.

Wash Programm:

Tastendruck:	Beschreibung:
<WASH>	Menüauswahl Wash Programm
<NONE>	Deaktivierung des Wash Programms

Drücken Sie **[Escape]** dreimal, um zurück zum „Ready Screen“ zu gelangen

Mischprogramm: (Siehe Seite 115 dieses Handbuchs)

Zu betätigende Tasten:	Beschreibung:
<MIX>	Auswahl Mischprogramm
<YES>	Bestätigung der Mischprogrammnutzung
<INSERT> **<ADD> [180] [Enter]** **<REAG-A> [Enter]** **<DESTINATION> [Enter]**	Eingabe des ersten Mischschrittes: Zufügen von 180 µl Reagenz A zum Zielvial.
<INSERT> **<ADD> [180] [Enter]** **<REAG-A> [Enter]** **<DESTINATION> [Enter]**	Eingabe des zweiten Mischschrittes: Zufügen von weiteren 180 µl Reagenz A zum Zielvial.
<INSERT> **<ADD> [40] [Enter]** **<SAMPLE>[Enter]** **<DESTINATION> [Enter]**	Eingabe des dritten Mischschrittes: Zufügen von 40 µl Probe zum Zielvial.
<INSERT> **<MIX> [3] [Enter]** **[250] [Enter]**	Eingabe des dritten Mischschrittes: 3-maliges Mischen des Zielvialinhalts mit einem Volumen von 250 µl

Drücken Sie **[Escape]** dreimal, um zurück zum „Ready Screen“ zu gelangen

Serienprogrammierung (Siehe Seite 117 dieses Handbuchs)

Tastendruck:	Beschreibung:
[Series] [1] [Enter]	Eingabe Seriennummer 1
[1] [Enter]	Eingabe Methodennummer:1
[1] [Enter]	Eingabe Erstes Probenvial: 01
[1] [Enter]	Eingabe Letztes Probenvial: 01
[2] [Enter]	Eingabe Erstes Zielvial: 02

Drücken Sie **[Escape]** zweimal, um zurück zum „Ready Screen“ zu gelangen

Serienausführung (Siehe Seite 119 dieses Handbuchs)

Geben Sie ein Probenvial in die Position 1, ein leeres verschlossenes Vial in die Position 2 und ein mit dem Reagenz A gefülltes Vial in die Position 86. (Ist eine Position nicht zugänglich, können Sie den Probenteller von Hand drehen.)

Stellen Sie sicher, dass das Transportvial beim Start einer neuen Serie korrekt gefüllt ist.

Tastendruck:	Beschreibung:
[Start/Stop]	
[1] [Enter]	Start der Serie Nummer:1
[1] [Enter]	Stopp nach Serie Nummer:1

Nach dem Drücken von **<START>** sucht der AS 3900 das Vial 86 und überführt zweimal 180 µl in das Zielvial und danach 40 µl der Probe. Dann wird dreimal gemischt gefolgt von einer 10 µl Injektion.

Programmübersicht

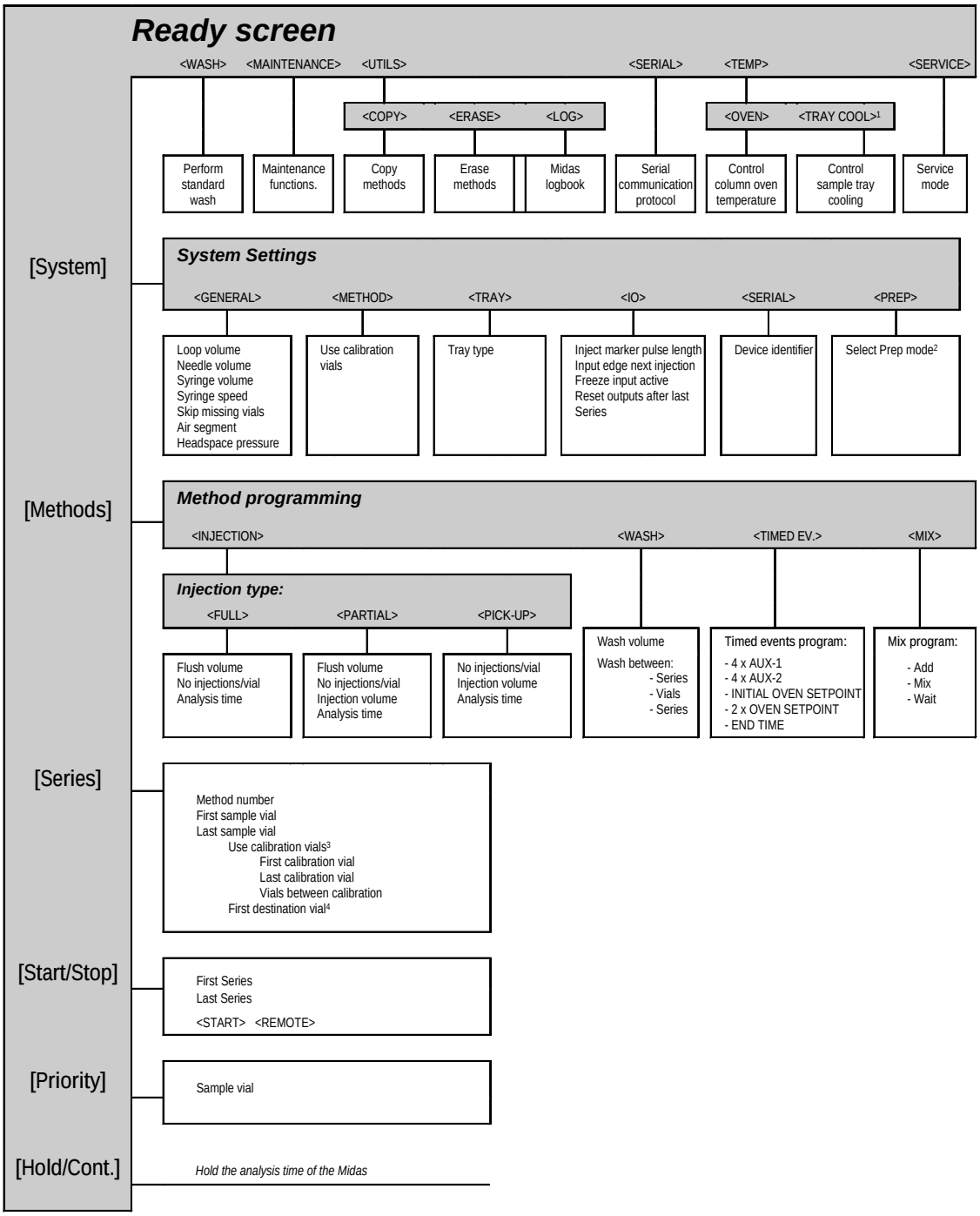


Abb. 1 Programmübersicht

1. Zugänglich wenn die optionale Probentellerkühlung installiert ist.
2. Bei ausgewähltem Prep mode, sind einige Systemeinstellungen nicht mehr programmierbar. Sie werden auf vorgegebene Werte gesetzt.
3. Abhängig von den Systemeinstellungen.
4. Im Fall das Zielvials in der Mischmethode verwendet werden.

AS 3900, allgemeine Beschreibung

Der AS 3900 wurde konzipiert, um allen Anforderungen eines modernen, analytischen Laboratoriums zu genügen: Er ist robust, kosteneffektiv und leicht einzubinden. Für konsistente Resultate sind eine Säulentemperatursteuerung und eine Probenkühlung verfügbar. Eine sehr feine Spritzensteuerung garantiert überragende Genauigkeit bei der Injektion oder Reagenzdosierung. Das gesamte Injektionsventil kann für einen schnellen Service innerhalb von Sekunden ausgewechselt werden. Diese und viele weitere Features sind in diesem Handbuch beschrieben, um Ihnen die Nutzung des vollen Potentials des AS 3900 zu ermöglichen.

PASA™, ein robustes Injektionsprinzip.

Die Vollschleifeninjektion mit druckunterstützter Probenansaugung (Pressure Assisted Sample Aspiration **PASA™**) ist ein bewährtes Konzept, das hohe Präzision mit Einfachheit und Verlässlichkeit verbindet:

- Keine unnötigen Bewegungen der Probennadel
- Reduzierte Gefahr von Luftblasen in der Probenführung
- Kein verschleißender und kontaminierender Nadelport
- Intelligente Ventilschaltung
- Sehr feine Spritzensteuerung mit höchster Genauigkeit

Es kann zwischen drei Injektionsmodi ausgewählt werden:

- Vollschleifeninjektion für maximale Genauigkeit
- Partielle Schleifenfüllung für maximale Flexibilität
- µl Pick-up für ausgeschlossenen Probenverlust

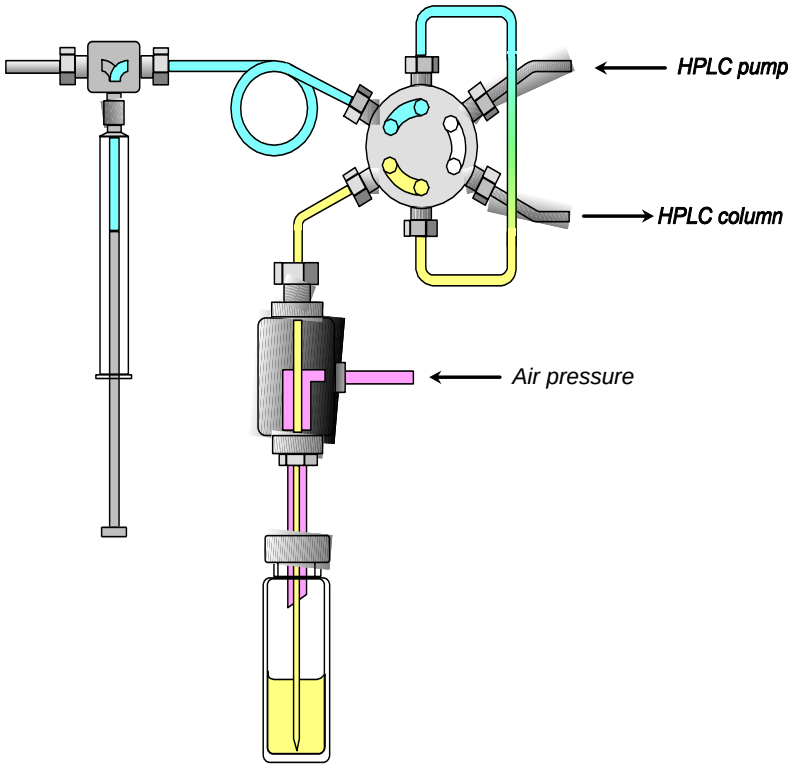


Abb. 2 Das PASA™ Injektionsprinzip

Säulenofen für konsistente Resultate.

Integraler Teil des AS 3900 ist ein Säulenofen, weil eine konstante Säulentemperatur für die Langzeitbeständigkeit einer chromatographischen Trennung von Bedeutung ist und möglicherweise von GLP Bestimmungen gefordert wird.

Optional integrierte Probenkühlung.

Eine voll integrierte thermo-elektrische Probenkühlung ist als **Cool-Option** erhältlich. Es sind keine zusätzlichen externen Vorrichtungen erforderlich. Das effiziente Kühlsystem verursacht keinerlei Beschränkungen des Probentellerzugangs während des Betriebes.

Reagenzzusatz.

Die Zugabe interner Standards, die Probenverdünnung oder –derivatisierung kann in einfachster Weise programmiert werden. Die Einschritt-derivatisierung einer Probe in einem separaten Zielvial erfordert nicht mehr als vier Programmzeilen. Mehrfache Reagenzzugabe ist durch zwei 10ml Reagenzvials auf dem Probenteller (Pos.86 und 87)ebenfalls möglich.

PC Steuerung.

Für die Kommunikation mit externen Computern sind ein serielles Interface und das Kommunikationsprotokoll Standard. Der AS 3900 kann auch direkt mit den KNAUER HPLC Softwarepaketen ChromGate® und EuroChrom® gesteuert werden.

Service freundliches Design.

Geringe Ausfallzeiten des AS 3900 werden durch im Mittel lange Zeiten zwischen Fehlfunktionen sowie durch einen schnellen Geräteservice gewährleistet. Spezielle Aufmerksamkeit wurde diesem Zusammenhang gewidmet, wie am Beispiel des Injektionsventils gezeigt wird. Der AS 3900 warnt Sie, sobald die normale Gebrauchszeit der Dichtung verstrichen ist oder das Drehmoment beim Schalten zu hoch wird. Das ermöglicht eine präventive Wartung bevor die Injektionen beeinträchtigt werden. Falls erforderlich, kann auch das komplette Ventil durch den speziellen Schnellmontagemechanismus innerhalb von Sekunden ausgewechselt werden.

Instrumentbeschreibung

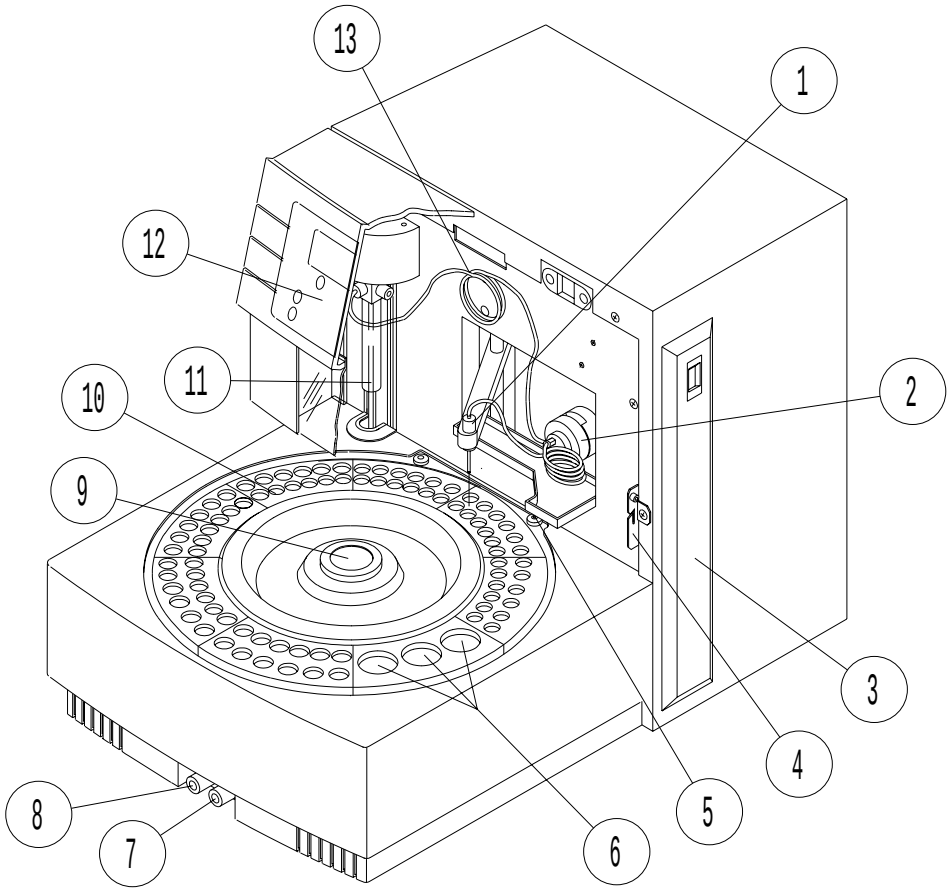
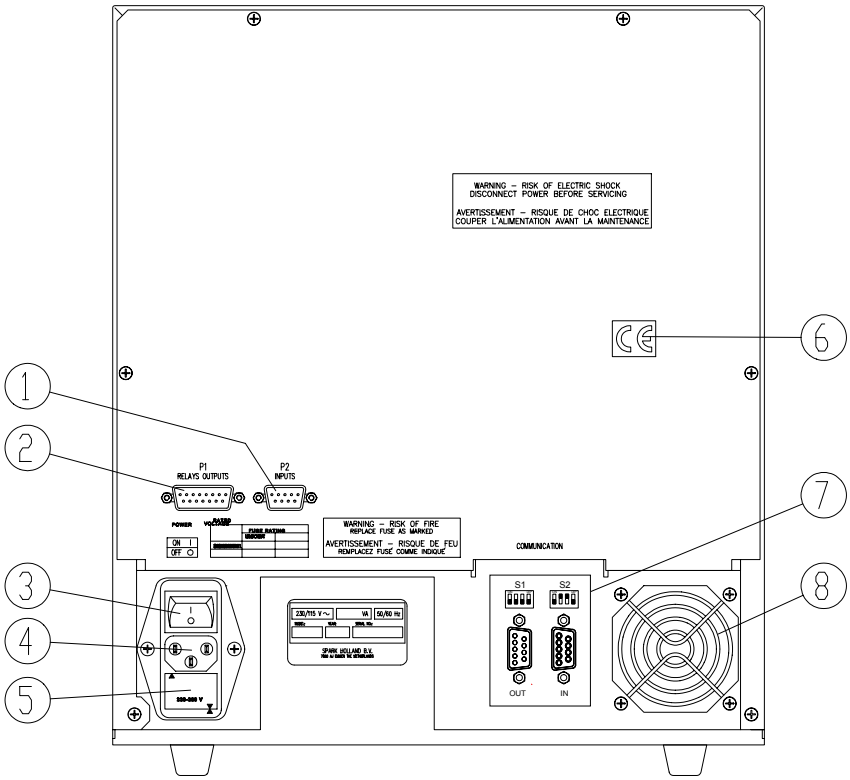


Abb. 3 Autosampler AS 3900, Explosionsbild

1. Nadelarm
2. Injektionsventil
3. Ofengehäuse
4. Schlauchhalterung
5. Waschposition
6. Position für Transportlösungsmittel- und Reagenzienvials
7. Wasch- und Abfallableitung
8. Kondenswasser und Undichtigkeitsableitung
9. Probentellerfixierung
10. Probenteller
11. Spritze
12. Tastatur
13. Pufferschlauch

Einsetzen des Probentellers in den AS 3900

- Setzen Sie den Probenteller in den AS 3900 und drehen Sie ihn bis er einrastet. Es ist nur eine Position möglich.
- Schrauben Sie die Probentellerfixierung (9) in Uhrzeigerrichtung fest.
- Der AS 3900 ist nun einsatzbereit.



1. P2- I/O Anschluss; Eingänge, Siehe Seite 101
2. P1- I/O Anschluss; Relay Ausgänge
3. Netzschalter
4. Netzeingang
5. Sicherungen und Spannungswahl
6. CE-Zeichen
7. RS-232 Interface Anschlüsse IN und OUT
8. Ventilator, nur bei der Cool-Option

Abb. 4 Rückansicht des AS 3900

Injektionsprinzip

Eine spezielle Folge von Ventilschaltungen und Spritzen gesteuerten Probenabgaben ermöglichen es mit dem AS 3900 in einfacher und reproduzierbarer Weise, Probenvolumen im Bereich von wenigen Mikrolitern bis zu Millilitern zu injizieren.

Deshalb stehen drei verschiedene Injektionsmethoden zur Auswahl:

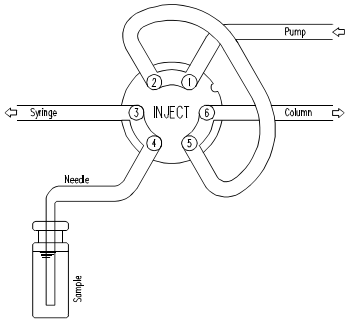
- **Full loop**: Die Probenschleife wird komplett mit Probe gefüllt, wodurch eine extreme gute Reproduzierbarkeit erreicht wird.
- **Partial loop fill**: Die Probenschleife wird nur partiell mit Probe gefüllt, wodurch bei programmierbarem Injektionsvolumen geringere Probenverluste erreicht werden.
- **µl pick-up**: Nach dem Ansaugen der programmierten Probenmenge wird dies mit mobiler Phase aus einem anderen Vial unter Ausschluss jeglichen Substanzverlustes in die Schleife transportiert.

Der AS 3900 verwendet eine Spritze um die Probe aus dem Vial in die Probenschleife zu saugen. Um Verunreinigungen der Spritze zu vermeiden, ist der AS 3900 mit einem Pufferschlauch zwischen Spritze und Ventil ausgestattet.

Das Waschlösungsmittel entfernt Probenreste aus der Probennadel und dem Pufferschlauch und spült beides.

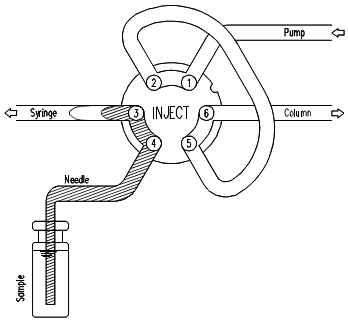
Vollschleifeninjektion

Die Schaltsequenz für eine Vollschleifeninjektion ist in den folgenden Abbildungen schematisch dargestellt:



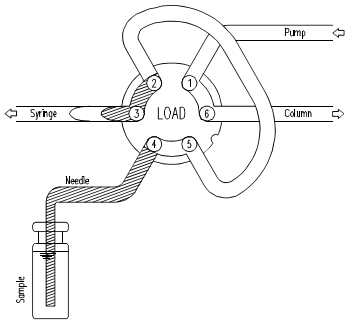
Ausgangssituation: Das Injektionsventil ist in der **INJECT** Position. Die Probennadel ist mit der Luftnadel in das Vial eingeführt. Der Headspace Druck, angelegt über die äußere Luftnadel, verhindert das Auftreten von Dampfblasen während des Ansaugens.

Abb. 5 Vollschleifeninjektion: Ausgangssituation



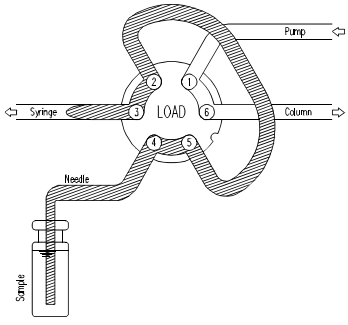
Die Spritze saugt das “flush volume” vom Probenvial in die Probenleitung um die Waschlösung zu entfernen.

Abb. 6 Vollschleifeninjektion: Spülen der Nadel und Probenleitung



Das Injektionsventil ist in die **LOAD** Position geschaltet und erzeugt so eine scharfe Probenfront am Schleifeneingang.

Abb. 7 Vollschleifeninjektion: Injektionsventil in LOAD Position



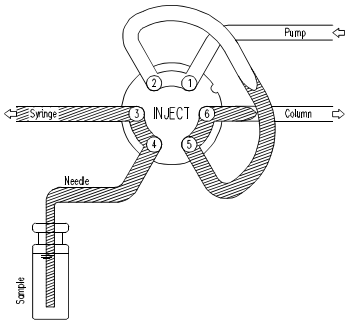
Die Probenschleife ist quantitativ mit Probe gefüllt, indem ein Mehrfaches des Schleifenvolumens (abhängig von der Schleifengröße) durch sie gefördert wurde.

3x Schleifenvolumen
für Schleifen <= 100 µl

2x Schleifenvolumen
für Schleifen 100 µl to 500 µl

1½x Schleifenvolumen
für Schleifen > 500 µl

Abb. 8 Vollschleifeninjektion: Füllen der Probenschleife



Das Injektionsventil ist in der **INJECT** Position. Die Probenschleife ist jetzt Teil des Fließweges der mobilen Phase des HPLC Systems und die Probe wird zur Säule Transportiert. Die Analyse wird gestartet.

Abb. 9 Vollschleifeninjektion: Injektion der Probe

Wenn eine Injektion je Vial durchgeführt wird oder nach jeder Injektion ein Waschprogramm vorgesehen ist, wird die Nadel direkt danach aus dem Vial gezogen und soweit programmiert gespült.

Nach Ablauf der Analysenzeit wird die nächste Injektionssequenz der Serie gestartet. Falls die nächste Injektionssequenz aus dem gleichen Vial erfolgt und keine Waschroutine programmiert ist, beginnt diese mit einem Spülgang mit 50% des programmierten Spülvolumens. In den anderen Fällen wird sie mit dem programmierten Waschvorgang starten.

Wenn das Volumen der nächsten Injektion das der Pufferleitung übersteigt, wird diese vor der nächsten Injektion gespült. Die Injektion wird in diesem Fall mit dem Spülen mit dem programmierten Volumen gestartet.

Luftsegment

Ein Luftsegment kann zur Reduzierung des Spülvolumens genutzt werden. Dieses Luftsegment ist an der Front des Spülvolumens und wird nicht mit injiziert. Es beeinflusst also weder die Injektion noch die Analyse. Das Luftsegment kann in den Systemeinstellungen aktiviert werden (ON/OFF, siehe Seite 108).

Bei einer Standardnadel muss das Spülvolumen mindestens 30 µl für Injektionen mit Luftsegment und 35 µl für Injektionen ohne Luftsegment betragen. Für höher viskose Proben sollte das Spülvolumen erhöht und die Nadelgeschwindigkeit verringert werden, um optimale Ergebnisse zu erzielen.

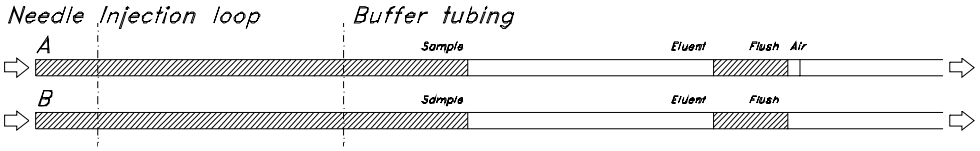
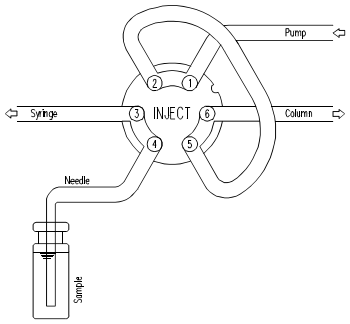


Abb. 10 Situation nach dem Füllen der Probenschleife (Vollschleifenfüllung) mit Luftsegment (A) oder ohne Luftsegment (B)

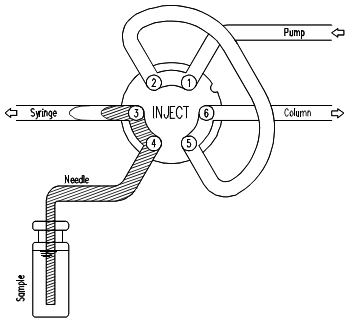
Partielle Schleifenfüllung

Die Schaltsequenz für eine Injektion mit partieller Schleifenfüllung ist in den folgenden Abbildungen schematisch dargestellt:



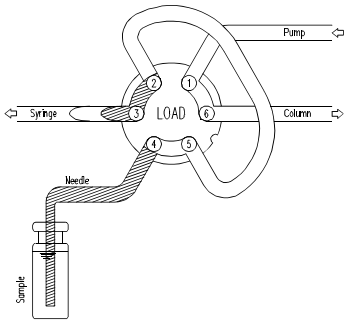
Ausgangssituation: Das Injektionsventil ist in der **INJECT** Position. Die Probennadel ist mit der Luftnadel in das Vial eingeführt. Der Headspace Druck, angelegt über die äußere Luftnadel, verhindert das Auftreten von Dampfblasen während des Ansaugens.

Abb. 11 Partielle Schleifenfüllung: Ausgangssituation



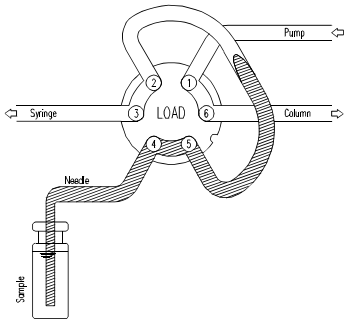
Die Spritze saugt das “flush volume” vom Probenvial in die Probenleitung um die Waschlösung zu entfernen.

Abb. 12 Partielle Schleifenfüllung: Spülen der Nadel und Probenleitung



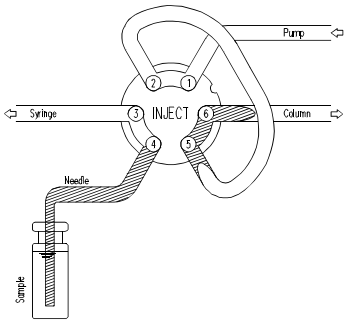
Das Injektionsventil ist in die **LOAD** Position geschaltet und erzeugt so eine scharfe Probenfront am Schleifeneingang.

Abb. 13 Partielle Schleifenfüllung: Injektionsventil in LOAD Position



Das programmierte Injektionsvolumen wird in die Probenschleife gefördert

Abb. 14 Partielle Schleifenfüllung: Füllen der Probenschleife



Das Injektionsventil ist in der **INJECT** Position. Die Probenschleife ist jetzt Teil des Fließweges der mobilen Phase des HPLC Systems und die Probe wird zur Säule Transportiert. Die Analyse wird gestartet.

Abb. 15 Partielle Schleifenfüllung: Injektion der Probe

Wenn eine Injektion je Vial durchgeführt wird oder nach jeder Injektion ein Waschprogramm vorgesehen ist, wird die Nadel direkt danach aus dem Vial gezogen und soweit programmiert gespült.

Nach Ablauf der Analysenzeit wird die nächste Injektionssequenz der Serie gestartet. Falls die nächste Injektionssequenz aus dem gleichen Vial erfolgt und keine Waschroutine programmiert ist startet sie mit einem Spülgang mit 50% des programmierten Spülvolumens. In den anderen Fällen wird sie mit dem programmierten Waschvorgang starten.

Luftsegment

Ein Luftsegment kann zur Reduzierung des Spülvolumens genutzt werden. Dieses Luftsegment ist an der Front des Spülvolumens und wird nicht mit injiziert. Es beeinflusst also weder die Injektion noch die Analyse. Das Luftsegment kann in den Systemeinstellungen aktiviert werden (ON/OFF, siehe Seite 108).

Bei einer Standardnadel muss das Spülvolumen mindestens 30 µl für Injektionen mit Luftsegment und 35 µl für Injektionen ohne Luftsegment betragen. Für höher viskose Proben sollte das Spülvolumen erhöht und die Nadelgeschwindigkeit verringert werden, um optimale Ergebnisse zu erzielen.

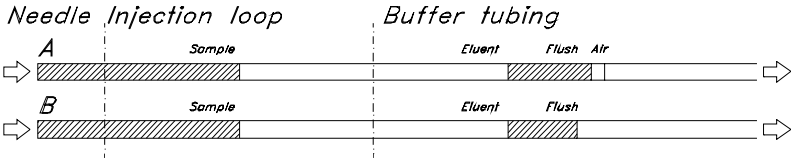
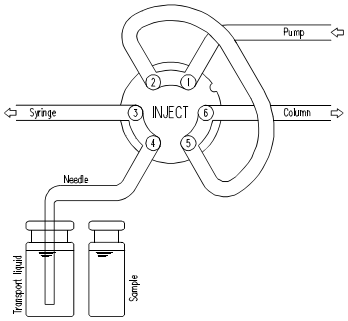


Abb. 16 Situation nach dem Füllen der Probenschleife (partielle Schleifenfüllung) mit Luftsegment (A) oder ohne Luftsegment (B)

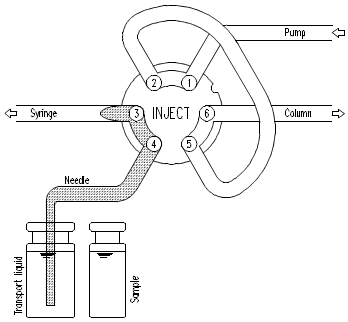
µl Pick-up Injektionen

Die Schaltsequenz für eine Injektion mit µl Pick-up ist in den folgenden Abbildungen schematisch dargestellt:



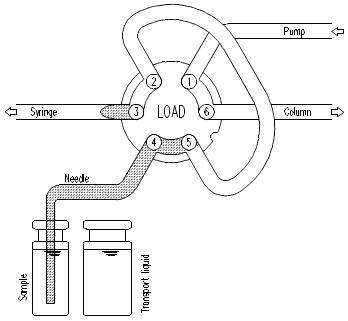
Ausgangssituation: Das Injektionsventil ist in der **INJECT** Position. Die Probennadel ist in das Vial mit der Transportlösung eingeführt. (Mobile Phase um Störungen im Chromatogramm durch zusätzliche Peaks der Transportlösung zu vermeiden).

Abb. 17 µl Pick-up Injektion: Ausgangssituation



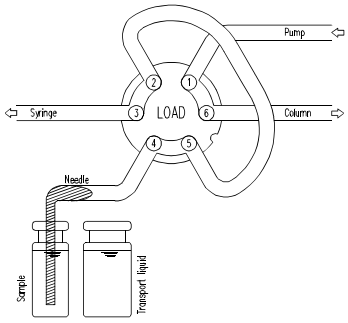
Füllen der Probenleitung mit Transportlösung für die erste Injektion nach dem Spülen und Leeren des Pufferschlauches.

Abb. 18 µl Pick-up Injektion: Füllen der Probenleitung mit Transportlösung



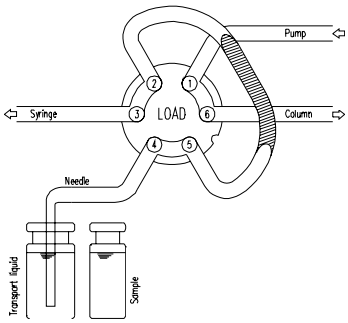
Die Nadel wechselt vom Transportvial zum Probenvial. Das Ventil ist in die **LOAD** Position geschaltet.

Abb. 19 µl Pick-up Injektion: Nadelwechsel zum Probenvial Injektionsventil in LOAD Position



Das programmierte Injektionsvolumen wird in die Probenschleife gefördert

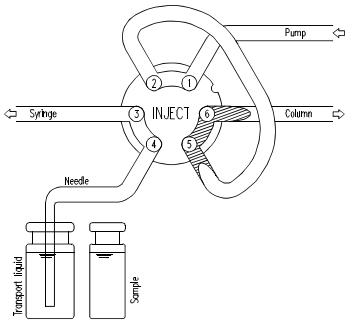
Abb. 20 µl Pick-up Injektion: Füllen der Probenschleife



Die Nadel wechselt zurück zum Transportvial.

Die Probe wird quantitativ mit der Transportlösung in die Probenschleife gefördert.

Abb. 21 µl Pick-up Injektion: Transport der Probe in die Probenschleife



Das Injektionsventil ist in der **INJECT** Position. Die Probenschleife ist jetzt Teil des Fließweges der mobilen Phase des HPLC Systems und die Probe wird zur Säule Transportiert. Die Analyse wird gestartet.

Abb. 22 µl Pick-up Injektion: Injektion der Probe

Für die nächste Injektion wird das erste Ansaugen von Transportlösung übersprungen, falls kein Wachprozess programmiert worden ist oder der AS 3900 den Inhalt des Pufferschlauches in den Waste gefördert hat. In diesen Fällen wird die Sequenz komplett durchlaufen.

Luftsegment

Falls ein Luftsegment programmiert ist erscheint dieses an der Front des ersten Transportlösungsbereiches und an der Front des Probenbereiches. Das Luftsegment kann in den Systemeinstellungen aktiviert werden (ON/OFF, siehe Seite 108).

Bei der µl Pick-up Injektion wird das direkt vor der Probe befindliche Luftsegment mit in das HPLC System injiziert.

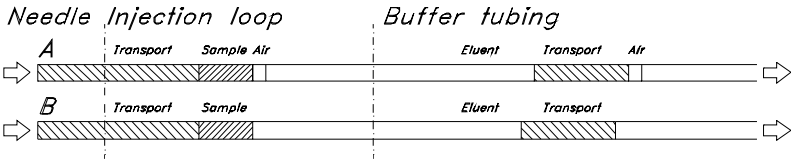


Abb. 23 Situation nach dem Füllen der Probenschleife (µl Pick-up Injektion) mit Luftsegment (A) oder ohne Luftsegment (B)

Die µl Pick-up Injektion erfolgt grundsätzlich ohne Luftdruck (headspace pressure) in den Vials, um Expansionen der Luftsegmente während der Nadelbewegungen zwischen den Vials zu vermeiden.

Installation

Auspacken

Inspizieren Sie den AS 3900 auf Anzeichen von Beschädigungen. Für Transportschäden des AS 3900, ersichtlich an Schäden am Transportgebinde, ist der Transporteur verantwortlich. Benachrichtigen Sie diesen unverzüglich. Wird ein Anspruch von Ihnen angemeldet, wird der Transportcontainer vom Transporteur inspiziert.

Für den Inhalt der Sendung siehe Packliste des Transportcontainers.

Vor dem Betrieb soll der AS 3900 sich während einer Stunde an die Umgebungstemperatur anpassen können.

Wir empfehlen, den Transportbehälter aufzubewahren. Er ist zu benutzen, falls ein Versenden des AS 3900, z.B. zu Servicezwecken, erforderlich wird.

Heben Sie den AS 3900 nur an den in Abb. 24 angezeigten Stellen an.

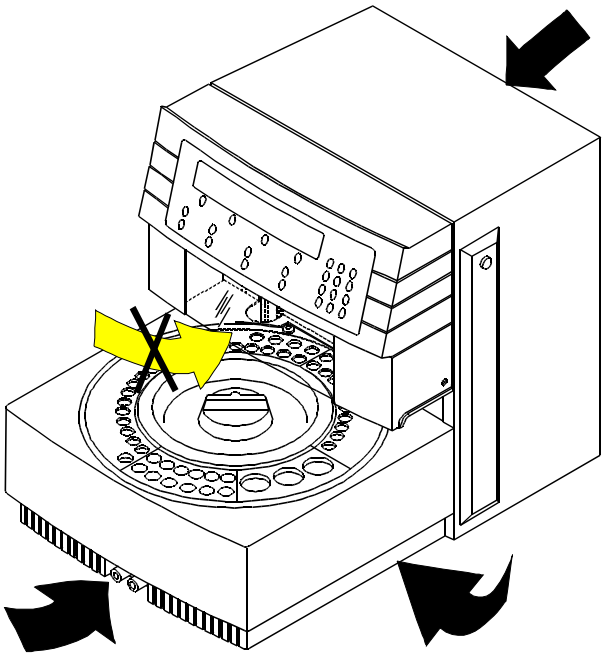


Abb. 24 AS 3900 Positionen zum Anheben des Gerätes

Heben Sie den AS 3900 mit beiden Händen an der Geräteunterseite oder mit einer Hand unter der Front und der anderen an der Geräterückseite an.

Heben Sie den AS 3900 nicht an der Fronthaube an!

Aufstellung des AS 3900

Der AS 3900 benötigt Labortischplatz von etwa 30 cm (12 inches) Breite und einen Netzanschluss (230 V_{AC} oder 115 V_{AC}, 50/60 Hz).

Stellen Sie sicher, dass keine der Lüftungsöffnungen blockiert ist. Eine Unterbrechung der Ventilation kann zu Fehlfunktionen führen oder sogar zur Zerstörung elektronischer Bauteile.

Stellen Sie den AS 3900 nicht an Orten mit signifikanter Staubeinwirkung, direkter Sonneneinstrahlung oder in unmittelbarer Nähe anderer Heizquellen auf. Vermeiden Sie Erschütterungen.

Netzanschluss

Überprüfen Sie die Einstellung der Eingangsspannung an der Anschlussbuchse auf der Rückseite des AS 3900. Stellen Sie sicher, dass diese Einstellung mit Ihrer Netzspannung übereinstimmt. Verwenden Sie ausschließlich Anschlusskabel mit Schutzerdung.

Falls die Spannung nicht übereinstimmt, ziehen Sie den Sicherungsträgerblock heraus und fügen ihn um 180° gedreht wieder hinein.

Überprüfen Sie, dass die richtigen Sicherungen installiert sind und wechseln Sie diese gegebenenfalls aus.

Alle Sicherungen müssen UL gelistet und CSA zertifiziert sein!
Verwenden Sie für 115 V_{AC} ±15%, zwei 5 AT- Sicherungen (slow).
Verwenden Sie für 230 V_{AC} ±15%, zwei 2,5 AT- Sicherungen (slow).

BRANDGEFAHR!
VERWENDEN SIE NUR DIE ANGEGEBEN SICHERUNGEN!

Wenn die Sicherungen und die Spannungseinstellung korrekt sind, schließen Sie das Netzkabel an.

Kapillar- und Schlauchanschlüsse

Herstellerseitig ist der AS 3900 mit einer 250 µl Spritze, einer 100 µl Probenschleife, einem 500 µl Pufferschlauch und einer Edelstahl-Probennadel ausgestattet.

Abb. 25 zeigt eine schematische Darstellung aller Teile, die mit Flüssigkeit in Kontakt kommen. Sie finden Sie auch auf der Innenseite der Fronthaube.

Für den Zugang zu den Flüssigkeitsanschlüssen müssen Sie die Fronthaube des AS 3900 öffnen. Dies setzt die Entfernung der Schraube an der rechten Seite der Haube voraus (Transportsicherung).

Siehe Tabelle 1 für die Dimensionen der Standardanschlüsse.

Um eine optimale Leistung des AS 3900 zu erreichen, muss eine geeignete Kombination von Spritze, Probenschleife und Pufferschlauch verwendet werden, siehe hierzu Abschnitt Nadel und Schlauchverbindung auf Seite 126.

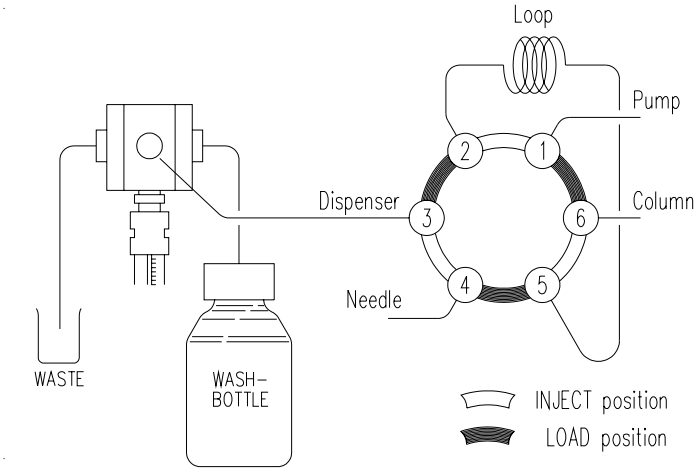


Abb. 25 Kapillar- und Schlauchanschlüsse AS 3900

Tabelle 1: Installierte Standardleitungen des AS 3900

Geräteteil	Material und Dimensionen	Label
Standard Probennadel und -schlauch	SS Schlauch; 70 mm x 0,65 mm OD x 0,25 mm ID	15 µl
	Tefzel Schlauch; 155 mm x $^{1}/_{16}$" OD x 0,25 mm ID	
Pufferschlauch vom Injektions- zum Spritzenventil	PTFE Schlauch; 640 mm x $^{1}/_{16}$" OD x 1,0 mm ID	500 µl
Schlauch vom Spritzenventil zur Waschlösungsflasche.	PTFE Schlauch; 300 mm x $^{1}/_{16}$" OD x 1,0 mm ID	
Schlauch vom Spritzenventil zur Abfallflasche.	PTFE Schlauch; 400 mm x $^{1}/_{16}$" OD x 1,6 mm ID	

HPLC Kapillaranschlüsse

Um reproduzierbare Injektionen ausführen zu können, müssen folgende Anschlüsse zu Ihrem HPLC System erstellt werden:

Verbinden Sie die HPLC Pumpe mit Port 1 des Injektionsventils.

Verbinden Sie die HPLC Säule mit Port 6 of des Injektionsventils.

Das Gerät wurde mit i-Propanol gespült. Stellen Sie Sicher, dass Ihre mobile Phase hiermit mischbar ist. Falls nicht, verwenden Sie ein Zwischenlösungsmittel, das sowohl mit i-Propanol, als auch mit Ihrer mobilen Phase mischbar ist. Lösen Sie hierzu die Verbindung zur Säule.

Grundsätzlich wird der Inhalt der Probenschleife immer im Gegenfluss zur Säule transportiert. **Verwechseln Sie deshalb nie die Anschlüsse von Pumpe und Säule am Injektionsventil.**

Abfallleitungen

Allgemeiner Abfall (Siehe Abb. 3, pos. 7)

Verbinden Sie den mitgelieferten Ableitungsschlauch mit dem rechten Ableitungsanschluss an der Front des Gerätes und führen Sie ihn zu einer Abfallflasche am Boden. Durch diese Leitung werden alle Flüssigkeiten aus der Waschposition abgeführt.

Probenanteile, die nicht injiziert worden sind, werden durch diesen Schlauch abgeleitet.

Spritzenabfall: (Siehe Abb. 25)

Führen Sie den Spritzenabfallschlauch in eine kleine Flasche links dicht neben dem AS 3900. Solange nur Injektionsvolumina kleiner als die Probenschleife programmiert werden, enthält der Spritzenabfall ausschließlich die Waschlösung.

Kondenswasser- und Leckageableitung: (Siehe Abb. 3, pos. 8)

Durch den linken Schlauchanschluss erfolgt die Leckageableitung sowie die Kondenswasserableitung falls die Peltier Cool Option installiert ist.

Ist diese installiert, sollte dieser Schlauchanschluss mit einem Auffanggefäß verbunden werden, das unterhalb des AS 3900 positioniert ist

Stellen Sie Sicher, dass der Ableitungsschlauch nicht geknickt ist und dadurch die Kondenswasserableitung gestört ist.

Waschlösung und Systemspülung

Verwenden Sie eine saubere Flasche für die Waschlösung und stellen Sie diese links dicht neben den AS 3900.

Wir empfehlen eine Mischung aus Wasser und i-Propanol (80/20 $^{v}/_{v}$%) oder Ihre jeweilige mobile Phase als Waschlösung zu verwenden.

Vor dem Gebrauch sollte die Waschlösung mit Helium oder in einem Ultraschallbad entgast werden.

Verwenden Sie auf keinen Fall Salz- oder Pufferlösungen als Waschlösung. Kristallisationen können zum Blockieren und zur Beschädigung des Gerätes führen.

Zur Füllung der Spritze und Schlauchverbindungen verfahren Sie wie folgt:

- Führen Sie den Waschlösungsschlauch in die gefüllte Waschlösungsflasche.
- Drücken Sie **<MAINTENANCE>** um zu den Wartungsfunktionen des AS 3900 zu gelangen.
- Füllen Sie den Schlauch durch Betätigung der Funktionstasten **<SYR END>** und **<SYR HOME>**.
  - Mit **<SYR END>** wird ein voller Spritzeninhalt aus der Flasche in den Schlauch gezogen.
  - Mit **<SYR HOME>** wird der aktuelle Spritzeninhalt in die Spritzenabfallleitung geführt.
- Wiederholen Sie beide Schritte, bis die Spritze und die Waschleitung komplett gefüllt sind.
- Drücken Sie **[Escape]** um das Wartungsmenu zu verlassen.

Drücken Sie danach **<WASH>** um eine Standard Waschroutine durchzuführen.

Spritze

Der AS 3900 ist werkseitig mit 250 µl Spritze ausgestattet, kann aber auch mit einer 1000 µl Spritze versehen werden, Spritzenwechsel siehe Seite 129.

Der AS 3900 liefert die besten Resultate, wenn absolute keine Luft in der Spritze verblieben ist. Verwenden Sie die <WASH> **Funktion um alle Luft aus der Spritze zu entfernen. Siehe auch Seite 97 für weitere Tipps zur Entlüftung.**

Vorbereitung der Vials

Vialdimensionen

Standardmäßig ist der AS 3900 mit einem 84 + 3 Probenteller ausgestattet, 84 1,5ml Probenvials und 3 10ml Vials für Reagenzien und Transportlösung.

Alle verwendeten Vials müssen folgenden Dimensionen entsprechen:

Maximale Höhe, einschließlich Verschluss: 47 mm
Minimale Höhe, einschließlich Verschluss: 32 mm

Maximaler Durchmesser:

Standardprobenvial:	12 mm
Reagenz- und Transportvial:	22 mm
Großvolumen Probenvial:	22 mm

Im Folgenden werden die Beispiele der Chromacolvials aufgeführt, die im AS 3900 verwendet werden können, siehe ANHANG A: Zubehör auf Seite 135.

Chromacol Standardprobenvials

Die folgenden Chromacolvials können im AS 3900 eingesetzt werden.

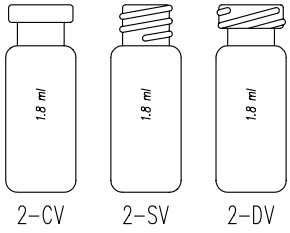


Abb. 26 Standardprobenvials

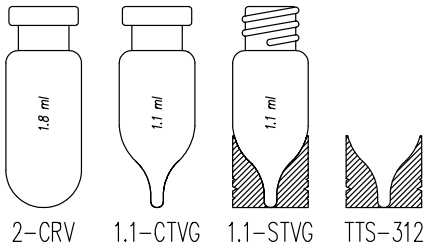


Abb. 27 Konische Vials mit Träger

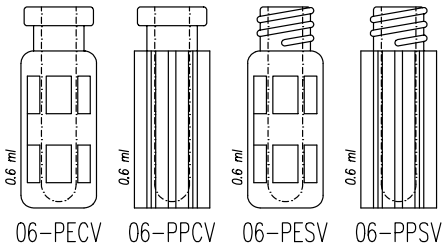


Abb. 28 Plasticvials

Zur Reduzierung des Probenvolumens von Standardprobenvials können die Chromacol Einsätze (02–MTV, 02–MTVWG oder 03–MTV) in Kombination mit den geeigneten Vials und Trägerringen oder Federn verwendet werden.

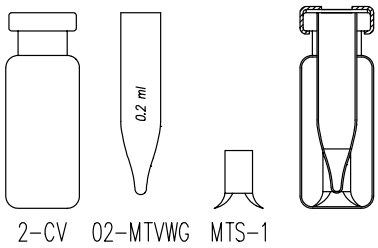


Abb. 29 Standardprobenvial mit Einsatz

Chromacol 2.5-CV Vials

Auch die Chromacol 2.5-CV Vials können im AS 3900 verwendet werden. in diesem Fall muss der Vialtyp in den Systemeinstellungen, siehe Seite 108 programmiert werden.

Der AS 3900 verwendet zwei Ansaughöhen um Flüssigkeit aus den 2.5-CV Vials anzusaugen. Deshalb muss die Nadel beim Start des AS 3900 gefüllt sein anderenfalls kann auch Luft angesaugt werden!

Chromacol Reagenz- und Transportvials

Das folgende Chromacolvial kann als Reagenz- und Transportvial eingesetzt werden, wie auch als Probenvial für den präparativen 24 Positionen Probenteller.

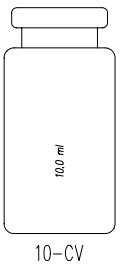


Abb. 30 Reagenz- und Transportvial

Verwenden sie keine unverschlossenen 10-CV Vials. Der Vialsensor des AS 3900 erkennt diese nicht als Vials!

Verwenden Sie in Kombination mit den 10-CV Vials

Chromacol:	20-ST101	

nur die Verschlusstypen:

Chromacol:	20-ACB	(Blank aluminium cap)
	20-MCB	(Blank tinplate cap)

Der AS 3900 verwendet zwei Ansaughöhen um Flüssigkeit aus den 10-CV Vials anzusaugen. Deshalb muss die Nadel beim Start des AS 3900 gefüllt sein anderenfalls kann auch Luft angesaugt werden!

Eppendorf Mikrozentrifugengläser

Eppendorf Mikrozentrifugengläser können anstelle der Standardprobenvials eingesetzt werden.

Zur Vermeidung von Probenverschleppung darf die Luftnadel nicht mit der Probe in Kontakt kommen!

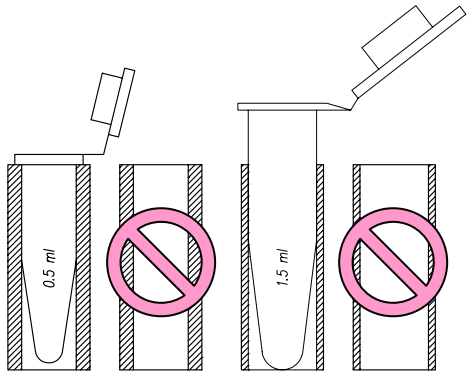


Abb. 31 Eppendorf Mikrozentrifugengläser mit Träger

Lassen Sie beim Einsatz von Eppendorf Mikrozentrifugengläsern keine Positionen des Probentellers dazwischen frei! Die Form der Gefäße kann das Erkennen der freien Positionen beeinträchtigen.

Füllen und Verschließen der Vials

Die Vials sollen mit einer engen Pipette gefüllt werden, um ein problemloses verdrängen der Luft zu gewährleisten.

Füllen Sie die Vials nicht bis zur Kante. Es besteht sonst die Gefahr der Probenverschleppung durch die Luftnadel.

Es ist wichtig, die Vials luftdicht zu verschließen. Anderenfalls kann der Kopfdruck zur Vermeidung des Auftretens von Luftblasen und des Verdunstens flüchtiger Substanzen nicht aufgebaut werden.

Bei der Verwendung unverschlossener Vials ist die Erfüllung der Injektionsspezifikationen (Präzision) nicht gewährleistet. Verwenden Sie die Vials nicht mehrfach, ohne Kappe und Septum zu erneuern.

Prüfen Sie die Dichtigkeit des Verschlusses. Wenn die Kappe sich leicht drehen lässt, ist sie nicht luftdicht verschlossen.

Beschickung des Probentellers

Setzen Sie die Vials in die vorgesehenen Positionen des Tellers und geben Sie diese in die Methode der Injektionsserie ein, siehe Seite 117. Um zu allen Positionen des Probentellers Zugang zu haben, kann dieser von Hand gedreht werden, wenn der AS 3900 nicht in Betrieb ist.

Steueranschlüsse I/O

Der AS 3900 hat standardmäßig drei I/O Steueranschlüsse:

- RS232 Anschluss zur seriellen Kommunikation unter Verwendung des Geräteprotokolls, siehe Abschnitt I/O auf Seite 111.
- Kurzschlussausgangsanschluss (P1)
- TTL Eingangsanschluss (P2)

Der Hersteller übernimmt keinerlei Verantwortlichkeit für Schäden, die direkt oder mittelbar auf das Anschließen an solche Geräte zurückzuführen sind, die nicht den relevanten Sicherheitsstandards entsprechen!

Kurzschlussausgangsanschluss (P1):

Tabelle 2: Anschluss P1: Kurzschlussausgang

Pin Nr.:	Beschreibung:	
1	Inject marker 1	Normally open
2	Inject marker 1	Common
3	Inject marker 1	Normally closed
4	Auxiliary 1	Normally open
5	Auxiliary 1	Common
6	Auxiliary 1	Normally closed
7	Inject marker 2	Normally open
8	Inject marker 2	Common
9	Inject marker 2	Normally closed
10	Alarm output	Normally open
11	Alarm output	Common
12	Alarm output	Normally closed
13	Auxiliary 2	Normally open
14	Auxiliary 2	Common
15	Auxiliary 2	Normally closed

V_{MAX} = 28 V_{DC} / V_{AC} , I_{MAX} = 0.25 A

Wenn das Injektionsventil von **LOAD** zu **INJECT** schaltet, wird ein **Inject marker Signal** (1 und 2) erzeugt. Der **Alarm Ausgang** wird aktiviert, wann immer ein Fehler am AS 3900 auftritt.

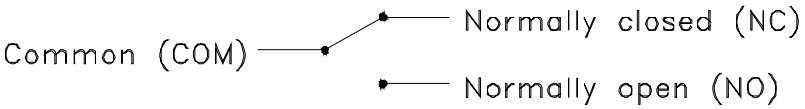


Abb. 32 Kurzschlussausgang

TTL Eingangsanschluss (P2)

Dieser Anschluss kann vom Anwender in den Systemeinstellungen als **active high** oder **active low TTL** Eingang definiert werden. Das **Next Injection Signal** wenn der AS 3900 in **Remote Control** betrieben wird. Die **Freeze Input** und **Stop Input** können bei der Steuerung des AS 3900 durch andere Geräte genutzt werden.

Tabelle 3: Anschluss P2: TTL Eingänge

Pin Nr.:	Beschreibung:
1	Next Inject Input
2	Signal Ground
3	Freeze Input
4	Stop Input
5-9	Signal Ground

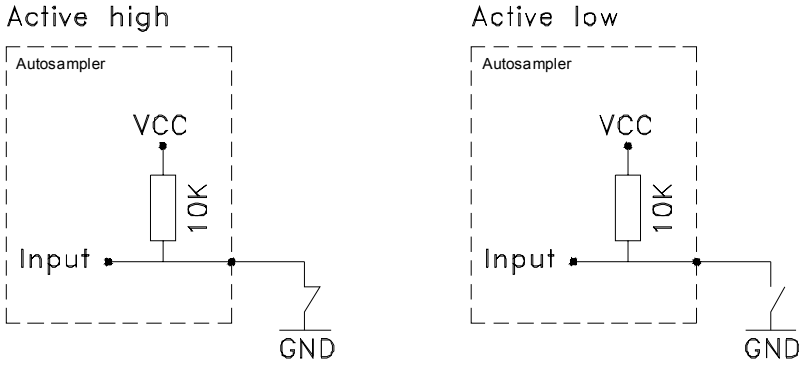


Abb. 33 TTL Eingänge

Next Injection Signal:

Dieses Eingangssignal startet bei ferngesteuertem AS 3900 die nächste Injektionsroutine. Nach deren Abarbeitung wartet das Gerät auf ein erneutes Next Injection Signal.

Ausgehend vom **„Ready Screen“** startet das **Next Injection Signal** die zuletzt gespeicherte Injektionssequenz. In diesem Falle führt der AS 3900 den kompletten Lauf aus, als ob er mit der **[Start/Stop]** ausgelöst wurde. Er wartet nicht auf ein neues **Next Injection Signal.**

Haltefunktion der Analysenzeit Freeze input:

Der AS 3900 friert den Ablauf der Analysenzeit ein, solange dieser Eingang aktiv ist. Ist der **Freeze Input** aktiv währen keine Analysenzeit läuft, führt der AS 3900 alle der Injektion vorgelagerten Probenbehandlungsoperationen (Misch- und Verdünnungsprogramme, Probenschleifenfüllung) aus. Die Injektion erfolgt jedoch erst, wenn der Eingang nicht mehr aktiviert ist.

Injektionsabbruch, Stop Input:

Beim Eingang dieses Signals bricht der AS 3900 die Injektionsserie sofort ab und kehrt zurück zum **„Ready Screen“**. Wird der AS 3900 fern gesteuert, wird der Lauf auch sofort unterbrochen, das Gerät bleibt jedoch im Remote Control Status, wobei es aber nicht auf ein **Next Injection Signal** reagiert, siehe Abschnitt Fernsteuerung auf Seite 120.

Multi Link Anschlüsse

Die MultiLink Anschlüsse dienen der Kommunikation des AS 3900 mit HPLC Softwarepacketen wie ChromGate® and EuroChrom®.

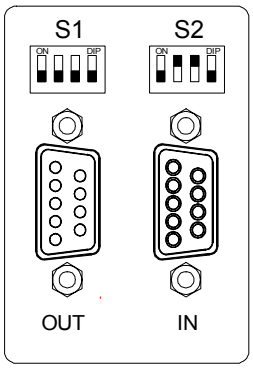
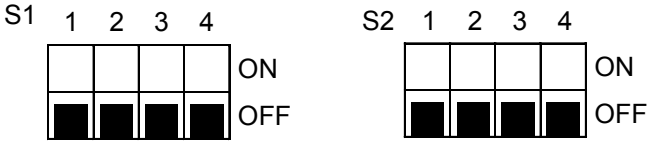


Abb. 34 Multi Link Anschlüsse

Für eine erfolgreiche Kommunikation setzen Sie die DIP-Schalter S1 und S2 wie folgt:



Port		Beschreibung
S1:	OUT	zu Nachgeschalteten Geräten
S2:	IN	zum PC oder Vorgeschalteten Geräten

Anschlussbelegung für den 9 Pin Anschluss:

pin 2	TD	Datentransport zum PC
pin 3	RD	Dateneingang vom PC
pin 5	SG	Signalerde (auch als GND in einigen Geräten gekennzeichnet)

Betrieb

Typographische Festlegungen

KEYBOARD Tasten:

Feste Funktions-tasten:	Feste Funktionstasten erscheinen im Druckbild in eckigen Klammern: [Start/Stop], [Hold/Cont.], [Priority], [Series], [Methods], [System], [Escape], [Menu], [Clear] und [Enter].
Variable Funktions-tasten:	Variable Funktionstasten werden zwischen spitzen Klammern beschrieben, wie: **<WASH>**, **<SYR END>**.

DISPLAY:

Das LCD-Display des AS 3900 wird wie folgt dargestellt:

```
                                    [MENU]
              READY (X.XX)       OVEN:30°C
                                 TRAY:10°C
  <WASH>  <MAINTENANCE>  <SERIAL>  <TEMP>
```

Benutzung der Tastatur

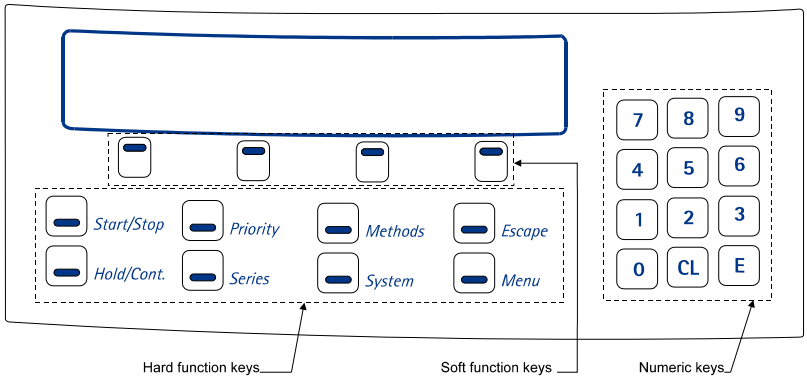


Abb. 35 Tastatur des AS 3900

Die 24 Tasten auf dem Bedienfeld des AS 3900 können in drei Gruppen eingeteilt werden:

1. **Zifferntasten** 0 bis 9, die **[Clear]** Taste (**CL**) zum Löschen von Werten und die **[Enter]** Taste (**E**) zur Bestätigung von Eingabewerten.
2. **Feste Funktionstasten**:
   - Drei Tasten zum Start und zur Steuerung des AS 3900 während des Laufs: **[Start/Stop]**, **[Hold/Cont.]**, **[Priority]**.
   - Vier Tasten zum Programmieren des AS 3900: **[Series]**, **[Methods]**, **[Menu]**, **[System]**.
   - Die **[Escape]** Taste zum Verlassen eines Menus zum nächst höheren Level bis hin zum **„Ready Screen“**

3. **Variable Funktionstasten**: Tasten, die je nach aktuellem Menu eine andere Funktion auslösen, die jeweils in der untersten Zeile des Displays angezeigt wird.

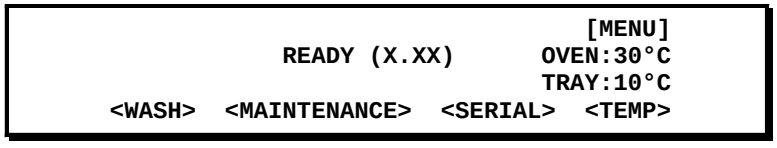
Feste Funktionstasten

Tasten-funktion	Beschreibung
[Start/Stop	Start und Stopp des automatischen Ablaufs.
[Hold/Cont.]	Anhalten und Fortsetzen des Countdown der Analysenzeit. Die Analysenzeit wird um den Zeitraum verlängert für den die **Hold** Funktion aktiv ist.
[Priority]	Unterbricht eine Runserie um eine Dringlichkeitsprobe zu injizieren und setzt die unterbrochene Serie danach mit der nächsten Injektion fort.
[Series]	Zugang zum **Series** Programmiermodus. In einer Serie werden die Vial-Positionen mit Methoden verknüpft.
[Methods]	Zugang zum **Methoden** Programmiermodus
[Menu]	Die **[Menu]** Taste ist nur aktiv, wenn dieses durch "**[Menu]**" in der rechten oberen Ecke des Displays angezeigt wird. Dann sind mehr als vier variable Funktionen zugänglich. Sie können jetzt mit der **[Menu]** Taste zwischen diesen Funktionen hin- und herschalten.
[System]	Zugang zum **System** Programmiermodus um die Systemeinstellungen des AS 3900 zu definieren.
[Escape]	Verlassen eines Menus zum nächst höheren Level. Beim Verlassen eines Programmierlevels werden die programmierten Parameter auf Konsistenz gecheckt und im Backup gespeichert.
[CL]	**Clear**; löscht den aktuellen Wert des programmierten Parameters. In einigen Fällen wird daraufhin **NONE** angezeigt.
[E]	**Enter**; checkt und speichert alle Werte der aktuellen Displayanzeige und wechselt zum nächst folgenden Programmiermenu.
0 - 9	Zifferntasten zur Eingabe numerischer Werte, die mit **[Enter]** bestätigt und gespeichert werden. Der Parameter bleibt unverändert, wenn das Menu mit **[Escape]** verlassen wird.

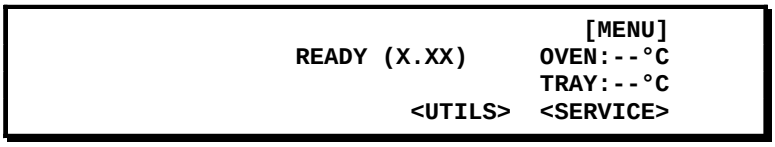
Direktfunktionen

Nach dem Einschalten des AS 3900 führt dieser eine Startroutine durch. Es erfolgt ein Selbsttest und alle Parameter werden auf die vorgegebenen beziehungsweise zuletzt in das Backup gespeicherten Werte gesetzt.

Danach zeigt der AS 3900 den **„Ready Screen“**:



[Menu]:



In der untersten Zeile zeigt der **„Ready Screen“** die variablen Funktionen, die von hieraus zur Verfügung stehen. Mit der **[Menu]** Taste können Sie zwischen den beiden Teilen des Menüs hin und her schalten.

In der zweiten und dritten Zeile werden rechts die Ofentemperatur und, falls die Option installiert ist, die Probentellertemperatur angezeigt.

Direkte Steuerfunktionen:

<WASH>

Aktiviert manuell das Spülen der Spritze, der Nadel und aller Schläuche und Kapillaren des AS 3900.

<MAINTENANCE>

Das Wartungsmenu bietet drei Funktionen zur Steuerung des Nadelarms, der Spritze und des Injektionsventils.

<NDL HOR>

Diese Funktion dient der Erleichterung des Auswechselns der Probennadel, der Luftnadel und des Ventils, siehe Abschnitt Austausch der Probennadel auf Seite 128.

Drücken Sie die **<NDL HOR>** Taste um den Nadelarm über den inneren Probenring zu positionieren. Durch drücken der **<NDL HOME>** Taste wird der Nadelarm wieder in die Homeposition bewegt.

<SYR END>

Diese Funktion dient der Erleichterung des Auswechselns der Spritze und der Füllung der Waschlösungsleitung, siehe auch Abschnitt Spritze auf Seite 129.

Drücken Sie **<SYR END>** um die Spritze in die Endposition zu bewegen. Dabei wird Waschlösung in die Leitung und die Spritze gesaugt. Die Spritze verharrt in dieser Position, bis **<SYR HOME>** gedrückt wird, wodurch der Spritzenkolben wieder in die Homeposition geführt wird und der Spritzeninhalt in die Spritzenabfallleitung gedrückt wird.

Nach dem Wechseln der Spritze können alle Leitungen auch wie oben beschrieben durch Betätigung der **<WASH>** Taste gespült werden.

<VLV LOAD>

Mit dieser Funktion können Sie das Injektionsventil schalten. Drücken Sie **<VLV LOAD>** um von INJECT auf LOAD zu schalten. Aus der LOAD Position kann es zurück auf INJECT geschaltet werden durch Betätigen von **<VLV INJ>**.

Sie können diese Funktion nicht mit **[Escape]** verlassen, solange sich das Ventil in der LOAD Position befindet. Sie müssen es zuvor erst wieder in die INJECT Position schalten.

Zum Verlassen des Wartungsmenüs betätigen Sie erneut die Taste **[Escape]**.

<SERIAL>

Durch Drücken von **<SERIAL>** gelangt der AS 3900 in den seriellen Kommunikationsmodus. In diesem kann der AS 3900 über ein RS232 Interface durch einen PC und eine HPLC-Software gesteuert werden.

```
                    SERIAL MODE

                              <PANIC STOP>  <EXIT>
```

Im seriellen Modus sind nur zwei variable Funktionstasten am AS 3900 zugänglich. Die anderen sind deaktiviert.

<PANIC STOP>	Der AS 3900 unterbricht den Lauf sofort und verlässt den seriellen Modus.
<EXIT>	Der AS 3900 verlässt den seriellen Modus und kehrt zurück zum **„Ready Screen“** und kann wieder manuell gesteuert werden. Die Taste ist **während** eines **Runs nicht** aktiv.

Nach einer Verwendung der <PANIC STOP> **Funktion soll auf jeden Fall eine Waschroutine durchgeführt werden, um alle Teile zu spülen.**

<TEMP>

Nach Drücken von **<TEMP>** zeigt der AS 3900 das Temperatursteuer-menu. für den Säulenthermostaten und (im Falle der installierten Cool-Option) der Probentellerkühlung.

```
     PROGRAMMING TEMPERATURE SETTINGS

        <OVEN>  <TRAY-COOLING>
```

Zur Programmierung der Ofentemperatur drücken Sie **<OVEN>**:

```
  PROGRAMMING OVEN SETTINGS
OVEN: OFF  SETPOINT: 20°C

   <ON>    <OFF >
```

Schalten Sie den Ofen durch betätigen der **<ON>** Taste ein und setzen Sie die Solltemperatur fest. Der Sollwert wird durch **[Enter]** bestätigt und gespeichert.

Obwohl Temperaturen im Bereich von 0°C bis 60°C eingegeben werden können, kann der AS 3900 Ofen nur Temperaturen regeln, die mindestens 5°C über der Umgebungstemperatur liegen.

Bei einem manuellen Start wird der im „Ready Screen“ auf ON **gesetzte Ofen wieder auf** OFF **gesetzt, wenn in der Methode keine Starttemperatur angegeben ist.**
Ist dagegen eine Starttemperatur programmiert, wird der Ofen aber aktiviert, auch wenn er auf OFF **gesetzt ist. Der AS 3900 wartet dann mit der Abarbeitung der Serie, bis die Starttemperatur ± 2 °C erreicht ist.**

Im Falle der installierten Cool-Option drücken Sie zur Programmierung der Probentellerkühlung **<TRAY-COOLING>**:

```
PROGRAMMING COOL SETTINGS
COOLING: OFF  SETPOINT: 04°C

   <ON>    <OFF>
```

Schalten Sie die Kühlung durch betätigen der **<ON>** Taste ein und setzen Sie die Solltemperatur fest. Der Sollwert wird durch **[Enter]** bestätigt und gespeichert.

Temperaturbereich der Kühlung: **4°C - 15°C**
Maximale Kühlkapazität: **20°C unter Raumtemperatur**

Zum Verlassen des Temperaturmenüs betätigen Sie erneut die Taste **[Escape]**.

<UTILS>

Nach dem Drücken von **<UTILS>** bietet der AS 3900 drei Dienstfunktionen an:

<COPY>	Kopiert eine Methode
<ERASE>	Löscht eine Methode
<LOG>	Das AS 3900 Logbuch, enthält Informationen über die Zahl der Schaltvorgänge des Injektions- und des Spritzenventils sowie der Spritzenkolbenhübe.

<SERVICE>

In den Servicemodus des AS 3900 gelangen Sie über Drücken von **<SERVICE>** und Eingabe des allerdings nur autorisierten Personen bekannten Servicecodes.

Systemeinstellungen

Drücken von **[System]** öffnet das Systemeinstellungsmenü des AS 3900, in dem alle Systemvariablen definiert werden.

```
SYSTEM SETTINGS                  [MENU]
SELECT SETTINGS TO DEFINE

<GENERAL>  <METHOD>   <TRAY>     <IO>
```

[Menu]

```
SYSTEM SETTINGS                  [MENU]
SELECT SETTINGS TO DEFINE
                                TRAY:10°C
<SERIAL>   <PREP>
```

Die Systemeinstellungen sind in fünf Unterabschnitte eingeteilt, die Sie über die entsprechenden Funktionstasten aufrufen können. Durch Betätigen der **[Enter]** Taste gelangen Sie Schritt für Schritt durch den jeweiligen Unterabschnitt.

Nach korrekter Eingabe aller Werte gelangen Sie mit der **[Escape]** Taste wieder in das Systemmenü und durch ein weiteres **[Escape]** in den **„Ready Screen“**.

Im Folgenden werden die definierbaren Parameter und ihre zulässigen Bereiche dargestellt:

Allgemeine Einstellungen

<GENERAL>:

Allgemeine Einstellungen	Bereich	Beschreibung
Volume of installed loop	0-5000 µl	Der AS 3900 nutzt das Volumen der Probenschleife für Berechnungen des Injektionsvolumens.
Volume of tubing needle -> valve:	0-999 µl	Volumen der Verbindung der Nadel mit dem Injektionsventil. Es wird genutzt zur Berechnung der Spül- und Transportoperationen.
Syringe volume:	<250> <1000>	Volumen der installierten Spritze.
Syringe speed:	<LOW> <NORMAL> <HIGH>	Die Geschwindigkeit der Spritzenkolbenbewegung kann in drei Stufen festgelegt werden: **NORMAL** für Proben mit einer mit Wasser vergleichbaren Viskosität **LOW** für Proben mit einer höheren Viskosität **HIGH** für Proben mit einer niedrigeren Viskosität (Siehe Tabelle 4).
Skip missing vials:	<YES> <NO>	Definiert, ob der AS 3900 leere Vial-Positionen überspringen oder die Serie abbrechen soll. **<NO>** Abbrechen der Serie **<YES>** Überspringen der Position und weitere Abarbeitung der Serie.
Air segment:	<YES> <NO>	Injektion einer Probe mit bzw. ohne Luftsegment zwischen Probe und Spüllösung. **ON** <YES> Ansaugen eines Luftsegmentes von 5 µl vor dem Spülvolumen. Das Luftsegment wird nicht auf die Säule gebracht. **OFF** <NO> Injektion ohne Luftsegment Die µl Pick-up arbeitet grundsätzlich mit Luftsegment, das in diesem Falle aber auf die Säule gelangt. (Siehe auch Seite 92)
Headspace pressure:	<YES> <NO>	Der AS 3900 verwendet normaler weise den Headspace Druck in Kombination mit der Spritzenansaugung zum Transport der Probe in die Probenschleife. Falls aus einem Grunde kein Headspace Druck aufgebaut werden soll, kann er mit <NO> auch ausgeschaltet werden, wodurch jedoch die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit des AS 3900 eingeschränkt werden kann. Der Kompressor wird auch für die Waschvorgänge benötigt.

Tabelle 4: Spritzengeschwindigkeit

Spritzen-geschwindigkeit	250 µl Spritze		1000 µl Spritze	
	Ansaugen	Fördern	Ansaugen	Fördern
LOW	0,31 ml/min	3,4 ml/min	1.25 ml/min	5.5 ml/min
NORMAL	0,62 ml/min	3,4 ml/min	2.50 ml/min	5.5 ml/min
HIGH	0,94 ml/min	3,4 ml/min	3.75 ml/min	5.5 ml/min
Spritzen-geschwindigkeit beim Spülen:	3,4 ml/min		13,7 ml/min	

Methodeneinstellungen

<METHOD>:

Einstellung	Bereich	Beschreibung
Use calibration vials:	**<ENABLED>** **<DISABLED>**	Bestimmt, ob Eichproben möglich sind.

Probentellereinstellungen

<TRAY>:

Einstellung	Bereich	Beschreibung
Tray type:	**<84+3>**	Standard–Probenteller für 84 Vials mit 1.5 ml und 3 Vials mit 10 ml für spezielle Verwendung. Vials 85-87 werden bei µl Pick-up Injektionen für Transport-flüssigkeiten eingesetzt Für Mischprogramme gilt: Vial 85: Transportflüssigkeit Vial 86: Reagenz A Vial 87: Reagenz B
Tray type:	**<96>**	Probenteller mit 96 1.5 ml Vials
Tray type:	**<24>**	Probenteller mit 24 10 ml Vials
Vial type	**<STANDARD>**	Standardvials werden verwendet
(nur bei <84+3> oder <96> Trays)	**<2.5ml>**	Nur 2.5 ml Vials werden verwendet (Chromacol 2.5-CV, 12 X 40 mm)

Mischprogramme und die µl Pick-up Injektionen können nur mit dem Standard–Probenteller <84+3> ausgeführt werden. Bei der Auswahl anderer Probenteller sind diese Funktionen nicht zugänglich.

I/O Konfiguration

<IO>:

Einstellung	Bereich	Beschreibung
Injection marker pulse length:	0.0 - 2.0 sec.	Definiert die Länge des Pulses für die Injektionsmarkierung, normal 1,0 sec.
Input edge next injection:	**<FALLING>** **<RISING>**	Definiert ob die an- oder absteigende Flanke des **next injection** Signals auslösend wirkt.
Freeze input active:	**<LOW>** **<HIGH>**	Definiert den Level für die Aktivierung der Freeze Funktion.
Reset outputs after last Series:	**<YES>** **<NO>**	Definiert ob nach dem Ende einer Serie ein Output Reset erfolgen soll oder nicht.

Wenn der Freeze Input HIGH **gesetzt ist und der Input mit keinem anderen Gerät verbunden ist, wird der Zeitcountdown eingefroren. Als Konsequenz: Der AS 3900 startet nicht.**

Serielle Kommunikation

<SERIAL>:

Einstellung	Bereich	Beschreibung
Device identifier:	60-69	Die Geräte ID wird im Kommunikations-protokoll der jeweiligen Software verwendet.

Prep-Modus Einstellungen

<PREP>:

Einstellung	Bereich	Beschreibung
Use Prep Mode:	**<YES>** **<NO>**	Definiert ob der AS 3900 ein Standardgerät ist, oder ein **Prep mode** Autosampler.

Wenn der Prep-Modus ausgewählt ist, sind einige Systemeinstellungen nicht mehr programmierbar. Sie sind dann auf einen vorgegebenen Wert gesetzt. Siehe ANHANG D: AS 3900, P auf Seite 147.

Im Prep-Modus werden die Mischfunktion, die Vollschleifen- und die µl Pick-up Injektion automatisch deaktiviert.

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht zu den im Prep-Modus fest programmierten Systemeinstellungen.

Tabelle 5: Fest programmierte Systemeinstellungen im Prep-Modus

Allgemeine Systemeinstellungen	
Volume of the installed loop	10000 µl
Syringe volume	2500 µl
Air segment	<NO>
Methoden Einstellungen	
Use of calibration vials	<DISABLED>
Probenteller Einstellungen	
Tray type	<24>

Zur Umrüstung eines Standardgerätes zum AS 3900 mit Prep-Option siehe ANHANG D: AS 3900, P auf Seite 147.

Injektionsvolumen des AS 3900, Präparativ

Stellen Sie sicher, dass das programmierte Injektionsvolumen nicht größer als 50% der installierten Probenschleife ist. Anderenfalls kann die spezifizierte Genauigkeit und Reproduzierbarkeit nicht gewährleistet werden.

Methodenprogrammierung

Der AS 3900 bietet die Möglichkeit, neun Methoden zu programmieren. Abhängig von den Erfordernissen kann jede Methode enthalten:

- **Injektionsprogramm** Enthält den Injektionstyp, das Spülvolumen, das Injektionsvolumen, die Anzahl der Injektionen je Vial und die Analysenzeit.
- **Waschprogramm** Enthält Informationen über das Waschprogramm des AS 3900.
- **Mischprogramm** Enthält Informationen über die Probenbehandlung vor der Injektion.
- **Ereignisprogramm** (Timed events program) Enthält Informationen über Zusatzeinrichtungen und die Temperatur des Säulenofens während der Analyse.

Jede Methode ist eine beliebige Kombination der obigen Parameter und wird als solche unter seiner Methodennummer gespeichert.

Drücken Sie **[Method]**, um in den Methodenprogrammiermodus zu gelangen.

Nach Eingabe und Bestätigung der Methodennummer geht der AS 3900 in den Hauptscreen der Methodenprogrammierung:

```
PROGRAMMING METHOD NUMBER: 1  (I W M T)
SELECT SECTION TO PROGRAM

<INJECTION>  <WASH>   <MIX> <TIMED EV.>
```

Von hier aus sind die einzelnen Sektionen durch Betätigung der entsprechenden Funktionstasten zugänglich.
Existierende Programmsektionen der ausgewählten Methode werden in der ersten Zeile rechts in Klammern angezeigt: **I** für Injektionsprogramm, **W** für Waschprogramm, **M** für Mischprogramm und **T** für Ereignisprogramm.

Nach Abschluss der Programmeingabe verlassen Sie das Menü mit **[Escape]**. Die Methoden werden netzunabhängig im Batterie Backup gespeichert.

Injektionsprogramm

<INJECTION>

```
METHOD NUMBER: 1   SECTION: INJECTION
INJECTION MODE: PARTIAL LOOPFILL

  <FULL>   <PARTIAL>  <PICK-UP>  <NONE>
```

Wählen Sie den gewünschten Injektionsmodus oder **<NONE>** falls keine Festlegung in dieser Methode erforderlich ist, siehe auch Abschnitt Injektionsprinzip.

<FULL>	Vollschleifeninjektion, siehe Seite 89
<PARTIAL>	Partielle Schleifenfüllung, siehe Seite 91
<PICK-UP>	µl Pick-up Injektion, siehe Seite 92
<NONE>	Kein Injektionsprogramm in dieser Methode

Je nach ausgewählter Injektionsmethode fragt der AS 3900 folgende Parameter ab:

Parameter:	**Bereich:**	
Flush volume:	0-9999 µl	Menge der Probe zur Füllung der Nadel und der Verbindung zum Injektionsventil (**nicht** das Schleifenvolumen). Nicht für µl Pick-up Injektionen.
Number of injections per vial:	1-9	Anzahl der Injektionen aus dem gleichen Vial.
Injection volume:	0-2500 µl	Nicht für Vollschleifeninjektionen
Analysis time:	Max. 9:59:59	Die Analysenzeit beginnt mit dem Schalten des Ventils von **LOAD** auf **INJECT**.

Die vollen Spezifikationen des AS 3900 werden nur garantiert, wenn das Flushvolumen mindestens zweimal das Volumen von Nadel und Verbindung zum Injektionsventil beträgt!

Das maximal mögliche Injektionsvolumen beträgt:

Full loop:	Nicht programmierbar, es ist gleich dem Schleifenvolumen, es wird jedoch eine größere Probenmenge zur vollständigen Schleifenfüllung erforderlich: 3 x Schleifenvolumen für Schleifen <= 100 µl 2 x Schleifenvolumen für Schleifen 100 µl to 500 µl 1½ x Schleifenvolumen für Schleifen > 500 µl
Partial loop fill:	50% des programmierten Schleifenvolumens.
µl Pick-up:	½ x Schleifenvolumen - 1½ x Verbindung zum Injektionsventil

Nach Abschluss der Programmeingabe verlassen Sie das Menü mit **[Escape]**.

Waschprogramm

<WASH>

```
METHOD NUMBER: 1   SECTION: WASH
WASH BETWEEN: INJECTION

<INJECTION> <VIALS>  <SERIES>  <NONE>
```

Ein Waschprogramm beinhaltet zwei Parameter:

Parameter:	Bereich:	
Wash between:	<INJECTION>	Nadel und Verbindung zum Ventil werden nach jeder Injektion gespült.
	<VIALS>	Nadel und Verbindung zum Ventil werden nach jedem Vial gespült.
	<SERIES>	Nadel und Verbindung zum Ventil werden nach jeder Serie gespült.
	<NONE>	Es wird keine Spülung durchgeführt.
Number of syringe volumes:	0-9	Festlegung des Waschvolumens in Anzahl der Nadelfüllungen.

Falls das Waschprogramm der einzige programmierte Teil einer Methode ist, wählen Sie *wash between Series*. **Anderenfalls wird die Serie mit dieser Methode nicht ausgeführt.**

Nach Abschluss der Programmeingabe verlassen Sie das Menü mit **[Escape]**.

Ereignisprogramm (Timed events program)

Nach dem Drücken von **<TIMED EV.>** fordert der AS 3900 eine Bestätigung, dass in dieser Methode Zeitereignisse verwendet werden sollen. Falls Sie mit **<YES>** antworten zeigt der AS 3900 folgenden Screen.

```
METHOD NUMBER: 1   SECTION: TIMED EVENTS
1. AUX-1 ON  AT TIME: 0:00:00

<AUX-1>   <AUX-2>   <OVEN>     <END>
```

Falls Sie <NO> **gewählt haben werden keine Zeitereignisse in dieser Methode verwendet und der AS 3900 kehrt zum vorhergehenden Menü zurück. Der Inhalt (bereits programmierte Zeitereignisse) der Methode werden** nicht **gelöscht. Sie stehen wieder zur Verfügung, wenn das nächste Mal die Option** <YES> **gewählt wird.**

Das Zeitereignisprogramm ist eine Liste von 20 programmierbaren Ereignissen um andere Geräte via die beiden Zusatzausgänge (Kurzschluss) zu steuern oder um neue Temperatureinstellungen des Ofens zu bewirken. Jedes Ereignis wird zeitlich programmiert. Bezugspunkt ist der Moment der Injektion (Schalten des Ventils).

Drücken Sie **[Clear]** um programmierte Zeiten zu löschen. Die Anzeige ist daraufhin **NONE**.

Tabelle 6 zeigt eine komplette Liste. Mit **[ENTER]** kommen Sie Schritt für Schritt in die nächsten Zeilen oder mit einer der Funktionstasten jeweils in die erste Zeile der entsprechenden Funktion.

Tabelle 6: Screenanzeige der Zeitereignisprogrammierung.

<AUX-1>	1. AUX-1 ON AT TIME: 0:00:00
	1. AUX-1 OFF AT TIME: 0:00:00
	2. AUX-1 ON AT TIME: 0:00:00
	2. AUX-1 OFF AT TIME: 0:00:00
	3. AUX-1 ON AT TIME: 0:00:00
	3. AUX-1 OFF AT TIME: 0:00:00
	4. AUX-1 ON AT TIME: 0:00:00
	4. AUX-1 OFF AT TIME: 0:00:00
<AUX-2>	1. AUX-2 ON AT TIME: 0:00:00
	1. AUX-2 OFF AT TIME: 0:00:00
	2. AUX-2 ON AT TIME: 0:00:00
	2. AUX-2 OFF AT TIME: 0:00:00
	3. AUX-2 ON AT TIME: 0:00:00
	3. AUX-2 OFF AT TIME: 0:00:00
	4. AUX-2 ON AT TIME: 0:00:00
	4. AUX-2 OFF AT TIME: 0:00:00
<OVEN>	INITIAL OVEN SETPOINT: 00°C
	1. OVEN SETPOINT: 00°C AT TIME: 0:00:00
	2. OVEN SETPOINT: 00°C AT TIME: 0:00:00
<END>	END OF TIMED EVENTS AT: 0:00:00

Obwohl Temperaturen im Bereich von 0°C bis 60°C eingegeben werden können, kann der AS 3900 Ofen nur Temperaturen regeln, die mindestens 5°C über der Umgebungstemperatur liegen.

Wenn der Ofen im „Ready Screen“ (Siehe Seite 107) auf ON **gesetzt worden ist, wird der Ofen trotzdem auf** OFF **gesetzt, falls keine Starttemperatur angegeben ist.**
Der Ofen wird aktiviert, auch wenn er auf OFF **gesetzt ist, aber eine Starttemperatur programmiert ist. Der AS 3900 wartet dann mit der Abarbeitung der Serie, bis die Starttemperatur ± 2 °C erreicht ist.**
Nach Durchführung der Serie wird der Ofen wieder auf OFF **gestellt wenn entweder die letzte Serie erreicht oder für die folgende Serie keine Starttemperatur programmiert ist.**

Wenn die Starttemperatur mit NO **programmiert ist, werden keine weiteren Zeilen für Temperaturänderungen angezeigt.**

Die END **Zeit hat eine höhere Priorität als die programmierte Analysenzeit.**
Die nächste Injektion wird gestartet, sobald und nicht bevor das Ereignisprogramm beendet ist.

Es können zwar nach der Endzeit liegende Ereignisse programmiert werden, sie werden aber nicht während **des Runs ausgeführt.**

Nach Abschluss der Programmeingabe verlassen Sie das Menü mit **[Escape]**.

Mischprogramm

Nach dem Drücken von **<MIX>** fordert der AS 3900 eine Bestätigung, dass in dieser Methode ein Mischprogramm verwendet werden soll. Falls Sie mit **<YES>** antworten zeigt der AS 3900 folgenden Screen.

```
METHOD NUMBER: 1   SECTION: MIX  LINE:01
END OF MIX

  <DOWN>     <UP>    <INSERT>   <DELETE>
```

Falls Sie <NO> **gewählt haben wird kein Mischprogramm in dieser Methode verwendet und der AS 3900 kehrt zum vorhergehenden Menü zurück. Der Inhalt (bereits programmierte Mischprogrammschritte) der Methode werden** nicht **gelöscht. Sie stehen wieder zur Verfügung, wenn das nächste Mal die Option** <YES> **gewählt wird.**

Das Mischprogramm besteht aus maximal 15 Zeilen einschließlich der Zeile **END OF MIX**.

Zum Wechseln zwischen den Programmzeilen benutzen Sie die **<DOWN>** und **<UP>** Funktionstasten.

Zum Löschen eines angezeigte Schrittes drücken Sie die **<DELETE>** Taste.

Drücken Sie **[Enter]** um einen angezeigten Schritt zu bestätigen.

Mit **<INSERT>** fügen Sie eine Zeile **vor** der angezeigten ein.

```
METHOD NUMBER: 1   SECTION: MIX  STEP:01
SELECT ACTION:

   <ADD>     <MIX>    <WAIT>
```

Es können drei Aktionstypen programmiert werden:
<ADD>, **<MIX>** und **<WAIT>**

<ADD>:	xxx µl	from	<SAMPLE> <REAG-A> <REAG-B> <WASH>	to	<SAMPLE> <DESTINATION>

Ziehe eine programmierte Menge von xxx µl (max. = Spritzenvolumen) aus dem Probenvial, **<SAMPLE>**, einem Reagenzvial, **<REAG-A>** oder **<REAG-B>**, oder aus der Waschlösungsflasche, **<WASH>**, und überführe sie in das Probenvial, **<SAMPLE>**, oder in das Zielvial, **<DESTINATION>**.

Zur Vermeidung von Probenverschleppungen zieht der AS 3900 zusätzlich 25% des programmierten Volumens zum Spülen von Nadel und Schlauchverbindung.

Die Ansaug- und Dosiergeschwindigkeit wird durch die verwendete Spritze und die in den Systemeinstellungen ausgewählte Spritzengeschwindigkeit bestimmt, siehe Seite 108.

Die Reagenzien und die Transportlösung müssen in folgende Positionen des Probentellers gestellt werden:

Transportlösung:	**Vial 85**
Reagenz A:	**Vial 86**
Reagenz B:	**Vial 87**

Beispiel: Programmieren Sie die Mischung und stellen Sie die Reagenz- und Transportlösungsvials in die entsprechenden Positionen:

Die Zeile ADD 200 µl from Reagent A to Destination

führt zu folgenden Aktionen:

- Ansaugen eines Luftsegmentes von 5 µl zur Trennung der Waschlösung vom Reagenz A im Pufferschlauch.
- Ansaugen von 50 µl Reagenz A zur Spülung der Nadel und des Verbindungsschlauches
- Entleerung der Spritze in die Waste-Position
- Ansaugen von 200 µl Reagenz A und Dosierung in das Zielvial
- Spülung der Nadel und des Verbindungsschlauches mit Waschlösung.

<MIX>: **x** times with **xxx** µl

Programmierung eines Mix-Schrittes: Angabe der Anzahl (x) wie oft eine programmierte Menge (xxx µl) vom Zielvial angesaugt und in dieses wieder dosiert wird. Wird kein Zielvial angegeben, erfolgt die Mischung im Probenvial

Beispiel: Die Zeile MIX 3 times with 250 µl.

führt zu folgenden Aktionen:

- Ansaugen eines Luftsegmentes von 50 µl zur Trennung der Waschlösung von der zu mischenden Lösung im Pufferschlauch.
- Entleerung der Spritze in die Waste-Position
- Ansaugen von 250 µl und Dosierung zurück in das Vial
- Zweimalige Wiederholung der letzten Aktion.
- Spülung der Nadel und des Verbindungsschlauches mit Waschlösung.

<WAIT>: x:xx:xx

Warten für einen programmierten Zeitraum bevor der nächste Schritt durchgeführt wird (Reaktionszeit).

Nach Abschluss der Programmeingabe verlassen Sie das Menü mit **[Escape]**.

Programmierung der Runsequenz; Serie

In einer Serie oder Runsequenz werden Methoden mit Vial-Positionen verknüpft.

[Series]

```
PROGRAMMING SERIES
SERIES NUMBER: 1
```

Geben Sie eine Nummer (1-9) ein und drücken Sie **[Enter]**.

Der erste Parameter einer Serie ist die Methodennummer. Abhängig von den Systemeinstellungen und vom Inhalt der ausgewählten Methode reagiert der AS 3900 mit einer Reihe von Fragen. Drücken Sie **[Enter]** um schrittweise die Fragen anzuzeigen.

Geben Sie einen Zahlenwert (1-9) ein oder drücken Sie **[Clear]** oder 0 um **NONE** auszuwählen und drücken Sie dann **[Enter]** um zum nächsten Menüpunkt zu gelangen.

- Method number: 1-9 oder **NONE**

Der Wert <NONE> **kann für leere Serien verwendet werden. Sie wird dann bei der Abarbeitung programmierter Serien übersprungen. Dies ist ein einfacher Weg, eine Serie zu entfernen, trotzdem aber die Möglichkeit zu haben, eine Serie bei laufendem Gerät wieder zu aktivieren, siehe Seite 121.**

Besteht die ausgewählte Methode nur aus Waschprogramm und/oder Ereignisprogramm, ist hiermit der Dialog beendet.

Wenn die Verwendung von Kalibrationsvials in den Systemeinstellungen aktiviert ist (siehe Seite 108) und die Methode kein Mischprogramm beinhaltet, zeigt der AS 3900 folgenden Dialog:

Use calibration vials (siehe Abb. 36) **<YES> <NO>**

<YES>:

- First calibration vial:
- Last calibration vial:
- No of samples between calibrations

Der Bereich der Kalibrationsvials ist:

- Last sample vial
- Last sample vial

Wenn in der Methode ein Mischprozess mit einem Zielvial programmiert ist, Fragt der AS 3900 nach der Position des ersten Zielvials. Das letzte Zielvial wird auf Basis der Probenvials automatisch ermittelt.

- First destination vial:

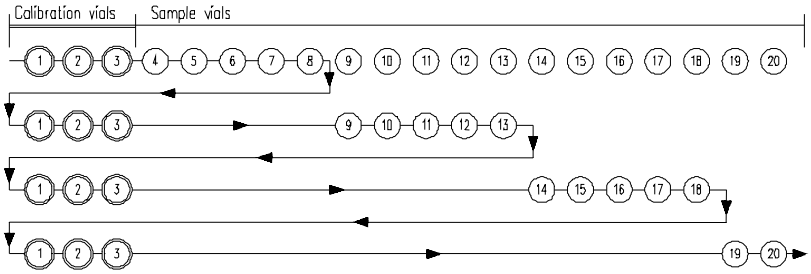


Abb. 36: Eine Runsequenz mit 3 Kalibrationsvials zwischen jeweils 5 Probenvials (erstes Kalibrationsvial: 1, letztes Kalibrationsvial: 3 und Anzahl der Proben zwischen den Kalibrierungen: 5)

Die Proben- und Kalibrationsvials müssen in nicht unterbrochenen Gruppen angeordnet sein. Sie dürfen sich nicht überlappen.

Nach Abschluss der Programmeingabe verlassen Sie das Menü mit **[Escape]**. Den **„Ready Screen“** erreichen Sie dann durch erneutes Drücken von **[Escape]**.

Serien werden nicht im netzunabhängigen Batterie Backup gespeichert!
Nach dem Einschalten sind die Serien leer (method: <NONE>**).**

Betrieb

Start und Stopp

Um einen Lauf des AS 3900 zu starten, drücken Sie **[Start/Stop]** am **„Ready Screen“**.

Der AS 3900 fragt dann nach der Seriennummer, mit der er beginnen soll und nach der letzten Seriennummer.

Geben Sie die Nummern ein und bestätigen Sie diese mit **[Enter]**.

```
EXECUTE SERIES 1


  <START>   <REMOTE>
```

Der AS 3900 kann direkt durch Drücken der **<START>** Taste oder im Remote Control Modus durch Drücken der **<REMOTE>** Taste, siehe Abschnitt Fernsteuerung unten.

Falls ein Mischprogramm oder eine µl Pick-up Injektion vorgesehen ist, vergewissern Sie sich das die Transport- und/oder Reagenz-Vials vollständig gefüllt sind.
Anderenfalls kann der AS 3900 Luft ansaugen, die über die Probenschleife in Ihr Chromatographiesystem gelangen kann, siehe auch Seite 99.

Zurück zum **„Ready Screen“** ohne den AS 3900 zu starten, drücken Sie **[Escape]**.

Während des Laufs zeigt der AS 3900 folgende Informationen:

```
STATUS: RUNNING            TIME: 0:00:00
SERIES:01  SAMPLE:01  INJ: 1/1 OVEN:--°C
METHOD:01                    TRAY:--°C
   AUX: 12
```

In der ersten Zeile werden der generelle Status und die abgelaufene Analysenzeit seit dem Start angezeigt.

Die zweite Zeile zeigt die Nummer der aktuell laufenden Serie die Nummer des Probenvials, die aktuelle Injektionsnummer, die Gesamtzahl der Injektionen und die aktuelle Ofentemperatur. “- -“ zeigt an, das der Ofen in OFF Stellung ist.

In der dritten Zeile wird die Nummer der laufenden Methode angezeigt. Diese wird auch verwendet, wenn eine Probe mit Priorität eingeschoben wird, siehe Abschnitt Probenpriorität.

Bei installierter und eingeschalteter Probentellerkühlung wird die aktuelle Probentellertemperatur angezeigt. “- -“ bedeutet, dass die Kühlung nicht installiert oder ausgeschaltet ist (OFF).

Die vierte Zeile gibt schließlich Auskunft über zusätzliche Steuerereignisse, falls solche in der Methode programmiert sind. Hinter “AUX:” angezeigte Zahlen geben an, dass diese Zusatzereignisse aktiv sind.

Serien werden immer in aufsteigender numerischer Reihenfolge abgearbeitet, nicht besetzte Seriennummern werden übersprungen.

Eine laufende Methode kann jeder Zeit durch Drücken von **[Start/Stop]** abgebrochen werden. Der AS 3900 führt dann eine Abschlussprozedur zur Entfernung der Probe aus der Pufferleitung durch. Sie wird mit einer Standardwaschroutine beendet.

Fernsteuerung

Nach dem wie oben beschriebenen Programmieren des abzuarbeitenden Serienbereiches drücken Sie **<REMOTE>** um die weitere Steuerung des AS 3900 im Remote Control Modus zu betreiben. Der AS 3900 arbeitet jetzt im Slavemodus eines anderen Gerätes und erwartet das Signal **Next Injection Input**.

Mit dem Eingangssignal **Nächste Injektion** startet der AS 3900 die nächste Injektion der aktuellen Serie. War diese schon beendet, wird die erste Injektion der nächsten Serie gestartet und alle weiteren programmierten Injektionen und Serien werden abgearbeitet. Während dieser Zeit zeigt der AS 3900 die gleichen Informationen wie ohne Fernsteuerung:

```
STATUS: RUNNING            TIME: 0:00:00
SERIES:01  SAMPLE:01  INJ: 1/1 OVEN:--°C
METHOD:01                    TRAY:--°C
r  AUX: 12
```

Zusätzlich weist ein blinkendes "**r**" in der linken unteren Ecke auf die Fernsteuerung (Remote Control) hin.

Zum Abschluss der bearbeiteten Serien zeigt der AS 3900:

```
SERIES COMPLETED VIA REMOTE CONTROL
```

Zum „Ready Screen" gelangen Sie jetzt wieder durch **[Escape]**. Von hieraus können Sie den AS 3900 wieder normal mit **[Start/Stop]** neu starten.

Solange SERIES COMPLETED VIA REMOTE CONTROL angezeigt wird, kann der AS 3900 mit einem Eingangssignal Nächste Injektion gestartet werden.

Probenpriorität

Für besonders dringliche Proben bietet der AS 3900 die Möglichkeit, diese zu analysieren, ohne die laufende Serie zu stoppen.

Drücken Sie **[Priority]**, um in den Prioritätsprogrammier-Modus zu gelangen.

Geben Sie hier die Position der Prioritätsprobe ein.

```
PROGRAMMING PRIORITY
PRIORITY SAMPLE: 12
```

Kehren Sie mit **[Escape]** zum Runscreen zurück. Die Prioritätsprobe wird dann nach Beendigung der laufenden Probe injiziert und zwar mit deren Methode.

```
STATUS: RUNNING            TIME: 0:00:00
SERIES:01  SAMPLE:01  INJ: 1/1 OVEN:--°C
METHOD:01                    TRAY:--°C
 p  AUX: 12
```

Ein blinkendes “**p**” in der linken unteren Ecke weist auf die Aktivierung einer Prioritätsprobe hin.

☞ **Solange das “**p**” blinkt, kann die Prioritätsprobe geändert oder entfernt werden.**

☞ **Der Prioritätsmodus ist nur** während **einer laufenden Methode zugänglich. Voraussetzung ist auch, dass diese** kein **Mischprogramm beinhaltet.**

☞ **Falls in der aktuellen Serie Kalibrationsvials verwendet werden, wird die Prioritätsprobe in das Kalibrierintervall einbezogen.**

Programmierung während des Laufs

Auch während des Laufs können Serien und Methoden am AS 3900 programmiert werden:
Drücken Sie **[Series]** oder **[Methods]**.
The programming possibilities are the same as described in sections Methodenprogrammierung und Programmierung der Runsequenz; Serie.

☞ **Geänderte Serien und Methoden werden erst nach Ablauf der aktuellen Serie aktiv. Die laufende Serie wird von den Änderungen** nicht **beeinflusst.**

Es ist nicht möglich, einer laufenden Serie Proben hinzuzufügen. Sie können jedoch bisher leere Serien zwischen der ersten und letzten Serie mit Proben aktivieren. Solange eine Serie noch nicht gestartet ist, kann sie (um-)programmiert werden.

Wartung

Injektionsventil

Der AS 3900 ist mit einem Valco, einem Rheodyne Ventil mit Schnellmontageanschluss oder einem biokompatiblen Ventil mit Schnellmontageanschluss ausgestattet.

Austausch des Injektionsventils

Der AS 3900 ist zur Vereinfachung des Ventilaustausches mit einem Schnellmontageventil ausgestattet.

Zum Ausbau des Ventils siehe Abb. 37:

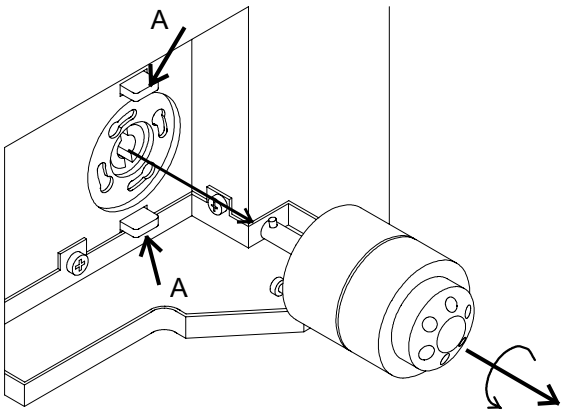


Abb. 37: Ventilausbau

- Entfernen Sie alle Kapillaranschlüsse vom Ventil. Die Demontage der Probenschleife ist nicht erforderlich.
- Bringen Sie den Nadelarm in die Frontposition, drücken Sie dazu **<MAINTENANCE> <NDL HRZ>**, siehe Abschnitt Direktfunktion auf Seite 105.
- Drücken Sie die Halterungen "**A**" nach hinten um das Ventil zu lösen.
- Ziehen Sie das Ventil unter Drehung entgegen dem Uhrzeigersinn heraus.

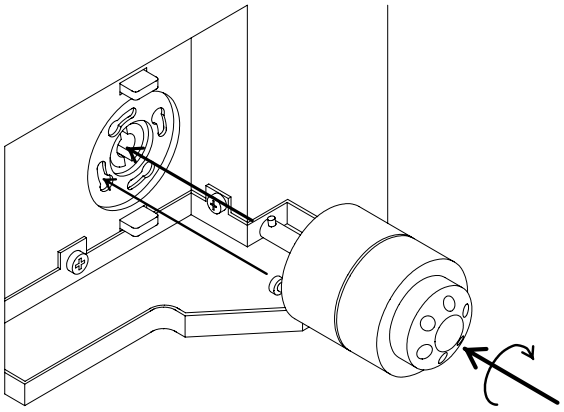


Abb. 38: Ventileinbau

Zum Einbau des Ventils siehe Abb. 38:

- Halten Sie das Ventil zum Einbau mit Port 1 nach oben.
- Führen Sie das Ventil in die Halterung ein und drehen Sie es bis zum Einschnappen im Uhrzeigersinn.
- Stellen Sie die Kapillarverbindungen wieder her.
- Stellen Sie durch Aus- und Einschalten des AS 3900 sicher, dass das Ventil in der INJECT Position ist.
- Führen Sie die Standardwaschroutine durch.

Valco Cheminert® Module C2 Ventil

Reinigung und Rotoraustausch

(Technical Note 810, Valco Instrument Co. Inc.)

Die Reinigung des Ventils wird üblicherweise durch Spülen aller Kanäle mit einem geeigneten Lösungsmittel vollzogen.

☞ **Bauen Sie das Ventil nicht auseinander, wenn eine Fehlfunktion des AS 3900 nicht eindeutig auf das Ventil zurückzuführen ist.**

Demontage

Siehe Abb. 39, Explosionsdarstellung.

- Lösen Sie mit einem 9/16 Inbusschlüssel die Kopfschrauben, die die Ventilkappe halten.
- Um Beschädigungen der Dichtfläche zu vermeiden, legen Sie die Kappe nie mit diesen nach unten ab.
- Nehmen Sie den Rotor vorsichtig vom Antrieb ab.
- Untersuchen Sie die Rotordichtung auf Kratzer. Sind solche mit bloßem Auge zu erkennen, **muss** der Rotor ausgewechselt

werden. Sind keine Kratzer zu erkennen, reinigen Sie alle Teile vorsichtig mit einem geeigneten Lösungsmittel. Am häufigsten sind Probleme in der HPLC auf die Bildung von Pufferkristallen zurückzuführen. Diese sind gewöhnlich wasserlöslich. Der Rotor braucht nicht getrocknet zu werden.

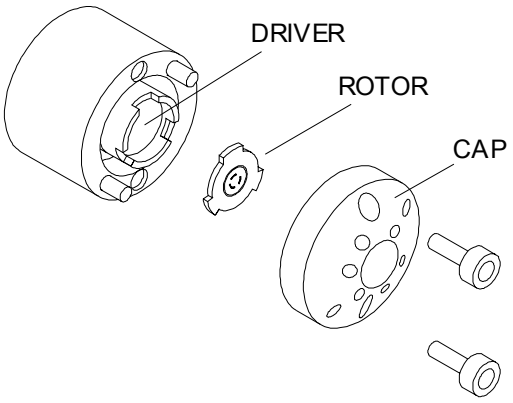


Abb. 39: Ventil, Explosionsdarstellung

Zusammenbau

- Setzen Sie den Rotor mit den eingravierten Fließkanälen nach außen in den Antrieb ein. Die Abmessungen sind asymmetrisch gehalten, um die richtige Position sicher zu stellen.
- Setzen Sie die Kappe auf. Fügen Sie die beiden Kopfschrauben ein und ziehen sie leicht an. Ziehen Sie sie nicht zu fest an, sie haben nur eine Haltefunktion und beeinflussen die Dichtungskräfte nicht. Diese stellen sich automatisch ein, wenn die Kappe am Ventilkörper anliegt.
- Prüfen Sie das Ventil, indem Sie das System unter Druck setzen. Wenn es den Druck nicht hält, muss es zur Reparatur an Valco eingeschickt werden.

Bedienungsanleitung für das Rheodyne Ventil Modell 7739

Kopie der Rheodyne Operating Instructions.

Beschreibung

Das Modell 7739 ist ein Zwei-Positionen, sechs Port Edelstahlventil. Abb. 40 zeigt das Flussdiagramm des Ventils. Die sechs kleinen Kreise symbolisieren die sechs Ventilports. Die Bögen stehen für die Verbindungspassagen im Rotor. Vor- und Rückwärtsdrehungen um jeweils 60° bringen das Ventil jeweils in die andere Schaltposition.

Abb. 40: Flussdiagramm des Ventils Modell 7739

Spezifikationen

- Maximale Temperatur: 100°C.
- Maximaler Druck: 345 bar (5000 psi).
- Die benetzten Teile sind aus Edelstahl und inertem Polymer.

Wartung

Bei normalem Gebrauch sind mehrere zehntausend Schaltungen ohne Probleme möglich. Hauptgrund für eventuelle frühere Fehler (zu erkennen an auftretenden Undichtigkeiten) sind abrasive Teilchen in der Probe oder der mobile Phase, die zu Kratzern auf der Rotordichtung führen können.

Zum Austausch der Rotor- und der Isolierungsdichtung verfahren Sie wie folgt, vergleiche Abb. 41:

- Entfernen Sie die drei Statorschrauben mit einem 9/16” Inbusschlüssel.
- Entfernen Sie den Stator und den Statorring vom Ventilkörper.
- Ziehen Sie die Rotordichtung von den Stiften ab.
- Entfernen Sie die Isolierungsdichtung.
- Setzen Sie die neue Isolierungsdichtung ein. Die Federseite muss der Rotordichtung abgewandt sein.
- Setzen Sie die neue Rotordichtung. Die drei Stifte gewährleisten die Richtige Ausrichtung der Rotordichtung. Die Fließkanäle müssen zum Stator zeigen.
- Setzen Sie den Statorring auf, so dass der Führungsstift des Ringes in die entsprechende Bohrung passt.
- Setzen Sie den Stator auf den Ventilkörper, so dass der Führungsstift in die entsprechende Bohrung passt.
- Setzen Sie die Statorschrauben ein und ziehen Sie sie gleichmäßig und alternierend an.

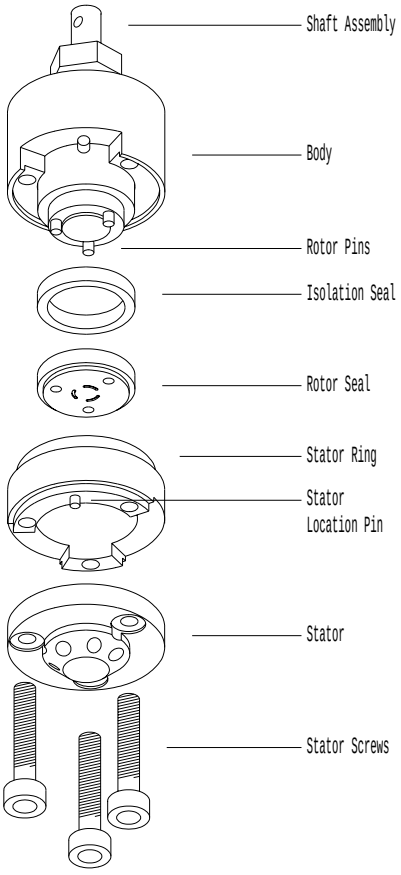


Abb. 41: Ventil, Explosionsdarstellung Modell 7739

Bedienungsanleitung für das Rheodyne Ventil 9740

Kopie der Rheodyne Operating Instructions.

Beschreibung

Das Modell 9740 ist ein Zwei-Positionen, sechs Port PEEK Ventil. Abb. 42 zeigt das Flussdiagramm des Ventils. Die sechs kleinen Kreise symbolisieren die sechs Ventilports. Die Bögen stehen für die Verbindungspassagen im Rotor. Vor- und Rückwärtsdrehungen um jeweils 60° bringen das Ventil jeweils in die andere Schaltposition.

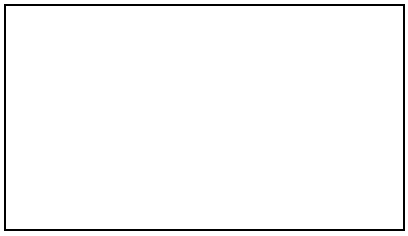


Abb. 42 Flussdiagramm des Ventils Modell 9740

Spezifikationen

- Maximale Temperatur: 50°C.
- Maximaler Druck: 345 bar (5000 psi).
- Die benetzten Teile sind aus PEEK, einer Aluminiumoxidkeramik und inertem Polymer.

ACHTUNG, WICHTIGER SICHERHEITSHINWEIS:

Verwenden Sie ausschließlich Plastikverschraubungen zum Anschluss der Kapillaren an den Statorports. Metallverschraubungen können irreparable Beschädigungen des Stators bewirken.

Wartung

Bei normalem Gebrauch sind mehrere zehntausend Schaltungen ohne Probleme möglich. Hauptgrund für eventuelle frühere Fehler (zu erkennen an auftretenden Undichtigkeiten) sind abrasive Teilchen in der Probe oder der mobile Phase, die zu Kratzern auf der Rotordichtung führen können.

Zum Austausch der Rotor- und der Isolierungsdichtung verfahren Sie wie folgt, vergleiche Abb. 43:

- Entfernen Sie die drei Statorschrauben mit einem 9/16” Inbusschlüssel.
- Entfernen Sie den Stator und den Statorring vom Ventilkörper.
- Ziehen Sie die Rotordichtung von den Stiften ab.
- Entfernen Sie die Isolierungsdichtung.
- Setzen Sie die neue Isolierungsdichtung ein. Die Federseite muss der Rotordichtung abgewandt sein.
- Setzen Sie die neue Rotordichtung. Die drei Stifte gewährleisten die Richtige Ausrichtung der Rotordichtung. Die Fließkanäle müssen zum Stator zeigen.
- Setzen Sie den Statorring auf, so dass der Führungsstift des Ringes in die entsprechende Bohrung passt.

- Setzen Sie den Stator auf den Ventilkörper, so dass der Führungsstift in die entsprechende Bohrung passt.
- Setzen Sie die Statorschrauben ein und ziehen Sie sie gleichmäßig und alternierend an.

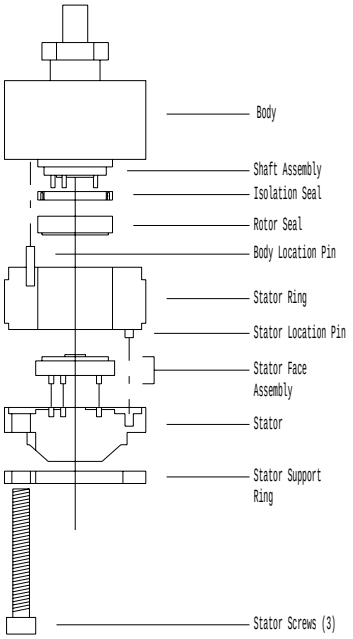


Abb. 43: Ventil, Explosionsdarstellung Modell 9740

Nadel und Schlauchverbindung

Für den Probengeber sind zwei Spritzengrößen verfügbar:
250 und 1000 µl

Standardmäßig ist die 250 µl Spritze mit einem 500 µl Pufferschlauch und der 100 µl Probenschleife kombiniert. Hiermit sind folgende (maximalen) Injektionsvolumina realisierbar:

- Vollschleifeninjektion: 100 µl
  Injektionsvolumen = Schleifenvolumen
- Partielle Schleifenfüllung: 1 - 50 µl
  Maximum = 50% des Schleifenvolumens
- µl Pick-up: 1 - 27 µl
  Maximum = 50% Schleifenvolumen - 150% Nadelvolumen

Die **Vollschleifeninjektion** liefert die **maximal mögliche Reproduzierbarkeit**, jedoch nicht die maximal mögliche Genauigkeit, weil das Schleifenvolumen mit einer Genauigkeit von ± 10% spezifiziert ist. Der minimale Probenverlust pro Injektion ist = 230 µl (2 x Schleifen-füllung + Nadelspülvolumen).

Die Injektion mit **partieller Schleifenfüllung** liefert die **maximal mögliche Genauigkeit** (abhängig von der Spritzengenauigkeit) und eine Reproduzierbarkeit besser als 0.5% RSD für Injektionsvolumina > 10 µl. Der minimale Probenverlust pro Injektion ist = 30 µl (Nadelspülvolumen). 30 µl sind das empfohlene minimale Spülvolumen, kleinere Volumina können programmiert werden, können aber das Ergebnis negativ beeinflussen.

Die Injektion im **µl Pick-up** ist verbunden mit der **Vermeidung jeglichen Substanzverlustes** und mit der gleichen **maximal möglichen Genauigkeit** wie die Injektion mit partieller Schleifenfüllung aber einer geringfügig niedrigeren Reproduzierbarkeit: RSD besser als 1% für

Injektionsvolumina > 10 µl.
5 µl **Luft** werden mit der Probe injiziert, falls in den Systemeinstellungen die Option air segment aktiviert worden ist.

In einigen Fällen sind andere Kombinationen von Spritze, Probenschleife und Pufferschlauch zu empfehlen:

Injektionsvolumina kleiner als 5 µl:

Partielle Schleifenfüllung:

Installieren Sie vorzugshalber eine 20 µl Probenschleife, um Genauigkeitseinbußen durch Expansion des Schleifeninhalts beim Schalten von der Inject- zur Loadposition vor dem Aufgeben der Probe zu vermeiden. Insbesondere beim Arbeiten mit hohen Drücken (200 bar) kann dieser Verlust bei der 100 µl Schleife in der Größenordnung von 0.1 - 0.5 µl liegen.

Beachten Sie, dass der minimale Probenverlust 30 µl für die erste Injektion aus einem Vial beträgt (empfohlenes minimales Spülvolumen). Für jede weitere Injektion aus demselben Vial sind mindestens weitere 15 µl (die Hälfte des programmierten Spülvolumens) anzusetzen. Zur Vermeidung jeglichen Substanzverlustes arbeiten Sie mit dem µl Pick-up Injektionsmodus.

µl Pick-up:

Installieren Sie keine kleinere **Probenschleife!**

Das Probensegment wird mit einem Vorgelagerten Luftsegment von 5 µl in die Schleife gefördert. Das entspricht dem 2,5 fachen des Nadelschlauchvolumens. Die 20 µl Schleife ist zu klein, um eine quantitative Injektion zu garantieren.

Injektionsvolumina bis zum zweifachen des Standards:

Mit der 250 µl Standardspritze, der Standardnadel mit 15 µl Schlauch und dem 500 µl Standardpufferschlauch, aber mit einer 200 µl Probenschleife betragen die maximalen Injektionsvolumina:

Vollschleifen-injektion:	200 µl	Der Substanzverlust bleibt bei 230 µl, weil bei Schleifen> 100 µl nur einmal Schleifenvolumen zur Überfüllung erforderlich ist
Partielle Schleifenfüllung:	100 µl	
µl Pick-up:	77 µl	

Kleinere Volumina als 10 µl können injiziert werden, aber die Reproduzierbarkeit und Genauigkeit von < 0.5% für die partielle Schleifenfüllung und < 1% für µl Pick-up werden nicht garantiert!

Injektionsvolumina größer als 200 µl:

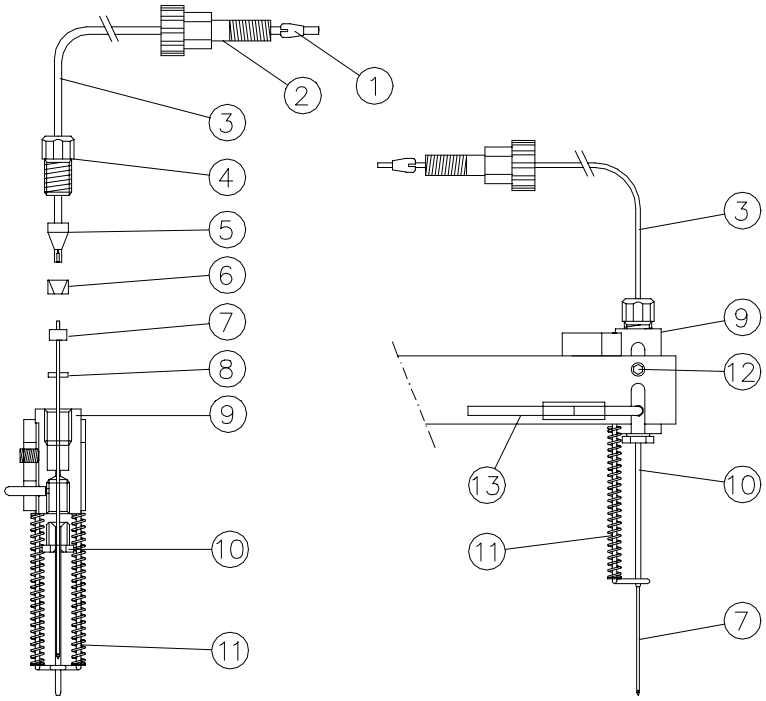
Installieren Sie einen 2000 µl Pufferschlauch; eine Probenschleife geeigneter Größe und eine größere Spritze (> 2 x Injektionsvolumen). Injektionsvolumina größer als 500 µl sind auch möglich, es besteht jedoch die Gefahr der Spritzenkontamination. Führen Sie deshalb nach der Injektion ein ausreichendes Waschprogramm aus!

Pufferschlauch:

Tabelle 7: Spritze und Pufferschlauch.

Spritze	Pufferschlauch
250 µl	500 µl
1000 µl	2000 µl

Probennadel



1	Ferrule	9	Nadelhalter
2	Verschraubung	10	Luftnadel
3	Tefzel Schlauch	11	Vialsensor
4	Verschraubung, Nadel	12	Einstellschraube für die Nadeleindringtiefe
5	Ferrule (PTFE)		
6	Konischer Ring	13	Luftschlauch für den Headspace Druck
7	Probennadel		
8	Silicon-Luftdichtung		

Abb. 44: Probennadel

Austausch der Probennadel

Zum Auswechseln der Probennadel verfahren Sie wie folgt (Siehe Abb. 44):

- Öffnen Sie die Tastaturhaube.
- Bringen Sie die Nadel durch drücken von **<MAINTENANCE>, <NDL-HOR>** in die vordere Position.
- Lösen Sie die Verschraubung (4) die die Nadel f(7) fixiert.
- Lösen Sie die Verschraubung (1) die den PTFE Schlauch (3) mit dem Injektionsventil verbindet.
- Entfernen Sie die Probennadel, ziehen Sie diese mit dem PTFE-Schlauch aus dem Ferrule heraus.
- Setzen Sie die neue Nadeleinheit ein und achten Sie darauf, dass die Silicon-Luftdichtung (8) auf der Nadel steckt.
- Fixieren Sie die Nadeleinheit mit der Verschraubung (4).
- Verbinden Sie das lose Ende des Verbindungsschlauches mit dem Port 4 des Injektionsventils.

Ziehen Sie die Verschraubungen nicht zu fest an, um ein Verklemmen des Schlauches zu vermeiden.

- Durch drücken von **<NDL HOME>** bringen Sie die Nadel wieder in die Homeposition und verlassen Sie den Wartungsmodus mit **[Escape]**.
- Überprüfen Sie die Eindringtiefe der Nadel und justieren Sie diese gegebenenfalls wie unten beschrieben.
- Führen Sie ein Routinewaschprogramm aus indem Sie **<WASH>** drücken.

Luftnadelaustausch

Zum Auswechseln der Luftnadel verfahren Sie wie folgt (Siehe Abb. 44):

- Entfernen Sie wie beschrieben die Probennadel.
- Entfernen Sie die Luftnadel (10) und installieren Sie die neue Nadel.
- Reinstallieren Sie die Probennadel wie beschrieben.

Eindringtiefe der Probennadel

Um das Restvolumen klein zu halten, sollte die Nadel bis kurz über dem Vialboden eintauchen. Zur Justierung der Eindringtiefe verfahren Sie wie folgt (Siehe Abb. 45):

- Öffnen Sie die Tastaturhaube.
- Setzen Sie ein unverschlossenes Vial in die Position 2 des Probentellers.
- Senken Sie die Nadel in das Vial, indem Sie
  - eine Vollschleifeninjektion mit einer Analysenzeit von mindestens 10 s programmieren
  - eine Serie mit dieser Methode und Vial 2 als erstem und letztem Vial programmieren
  - die Serie starten
  - den Netzschalter ausschalten, sobald die Nadel im Vial ist.
- Lösen Sie die Einstellschraube um eine Drehung entgegen dem Uhrzeigersinn.
- Justieren Sie die Eindringtiefe, indem Sie die Verschraubung (4) als Griff benutzen.
  Die Nadel sollte nicht tiefer als 1 mm über dem Boden eines Standardvials und nicht tiefer als 2 mm über dem Boden eines konischen Vials stehen.
- Ziehen Sie die Justierschraube im Uhrzeigersinn wieder fest.
- Schalten Sie das Gerät wieder ein.

Spritzenwechsel

Der AS 3900 ist standardmäßig mit einer 250 µl Spritze ausgestattet, kann aber auch mit einer 1000 µl Spritze versehen werden.

Zum Spritzenwechsel verfahren Sie wie folgt:

Schalten Sie den AS 3900 <u>nicht</u> aus. Die Stromversorgung wird zur Bewegung der Nadel benötigt.

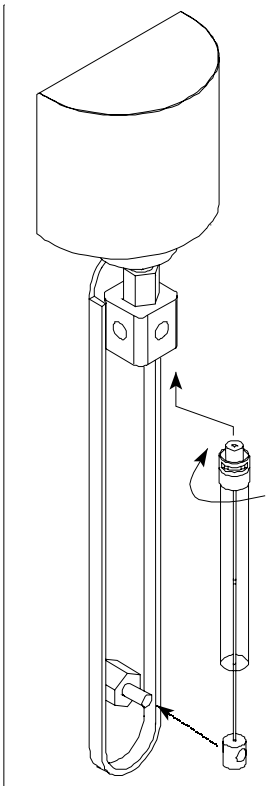


Abb. 46: Auswechseln der Spritze

- Drücken Sie **<MAINTENANCE>** um aus dem Wartungsmenü Zugang zu den Spritzenbewegungen zu bekommen.
- Bringen Sie die Spritze in die Endposition durch Drücken von **<SYR END>**.
- Schrauben Sie die Spritze vom Spritzenventil ab. Sichern Sie dabei; dass die Luerverbindung im Ventil richtig platziert bleibt.
- Lösen Sie den Spritzenkolben vom Antrieb.
- Füllen Sie die neue Spritze **blasenfrei** mit Waschlösung.
- Verbinden Sie den Kolben der gefüllten Spritze mit dem Spritzenantrieb und die Spritze mit der Luerverbindung am Spritzenventil.
- Schrauben Sie die Spritze vorsichtig in die Luerverbindung.
- Entfernen Sie die Luft aus der Spritze durch Drücken von **<SYR HOME>.** Die Spritze geht in die **HOME** Position und fördert ihren Inhalt in den Spritzenabfall.
- Falls Luftblasen in der Spritze verbleiben, drücken Sie noch einmal **<SYR END>**. Die Spritze wird mit Waschlösung gefüllt. Drücken Sie **<SYR HOME>**, um den Inhalt in den Spritzenabfall zu fördern. Falls immer noch Luftblasen in der Spritze verblieben sind, wiederholen Sie die letzte Aktion, wobei Sie die Blasen durch vorsichtiges Klopfen an den Spritzenkörper entfernen.
- Verlassen Sie den Wartungsmodus mit **[Escape]**.
- Führen Sie ein Routinewaschprogramm aus indem Sie **<WASH>** drücken.

Der AS 3900 ist nun wieder zum Einsatz bereit.

Troubleshooting

Startprobleme

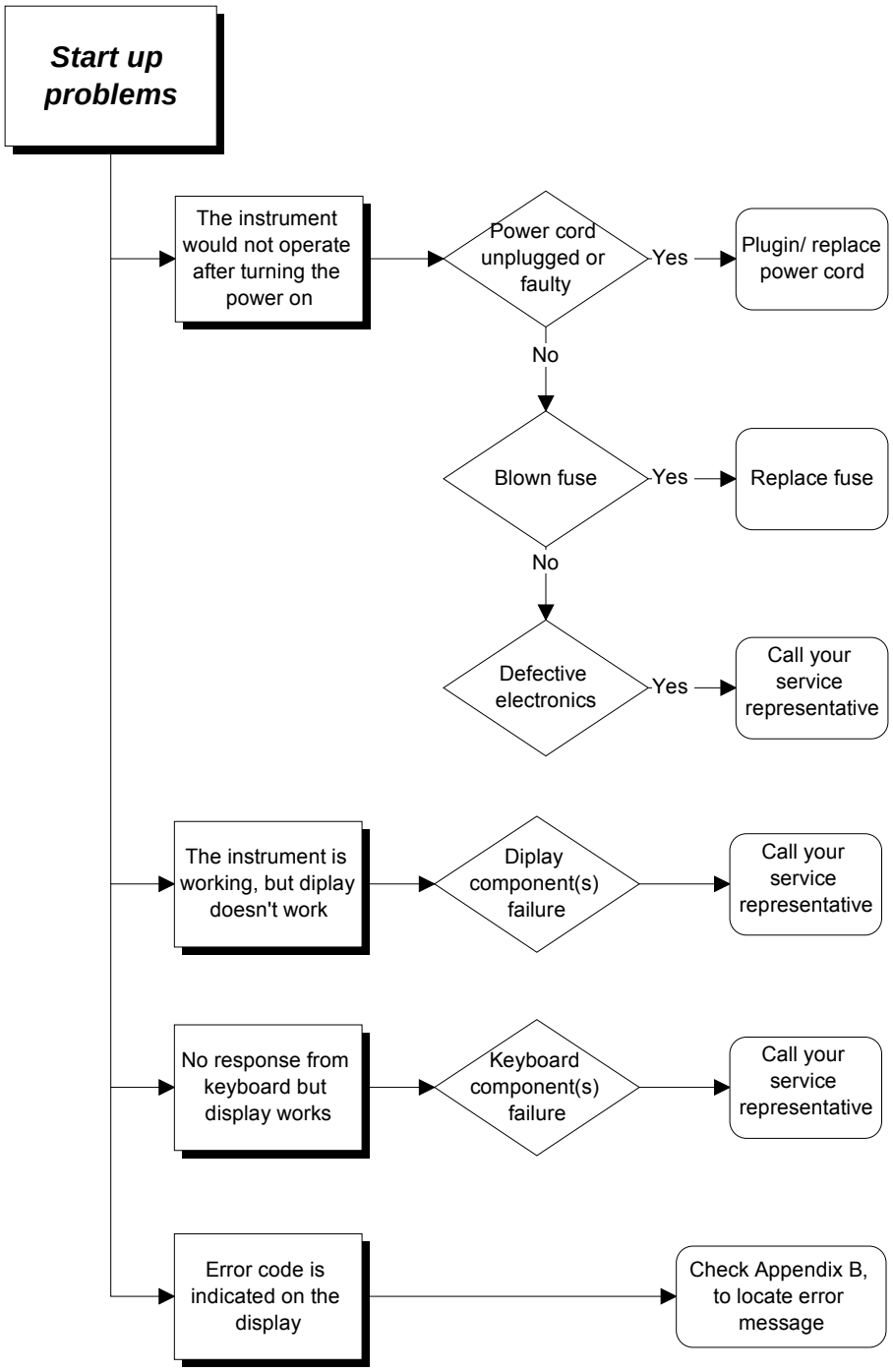


Abb. 47: Startprobleme

Analytische Probleme

Im Falle analytischer Probleme ist als erstes zu klären, ob diese im AS 3900 oder in sonst einem Teil Ihres HPLC-Systems ihre Ursache haben.

Schnelltest

Ersetzen Sie den Autosampler durch ein manuelles Injektionsventil. Führen Sie einige Vollschleifeninjektionen durch. Treten die Probleme jetzt nicht auf, müssen sie ihre Ursache im AS 3900 haben, anderenfalls müssen Sie ihr HPLC-System auf Fehlerquellen untersuchen.

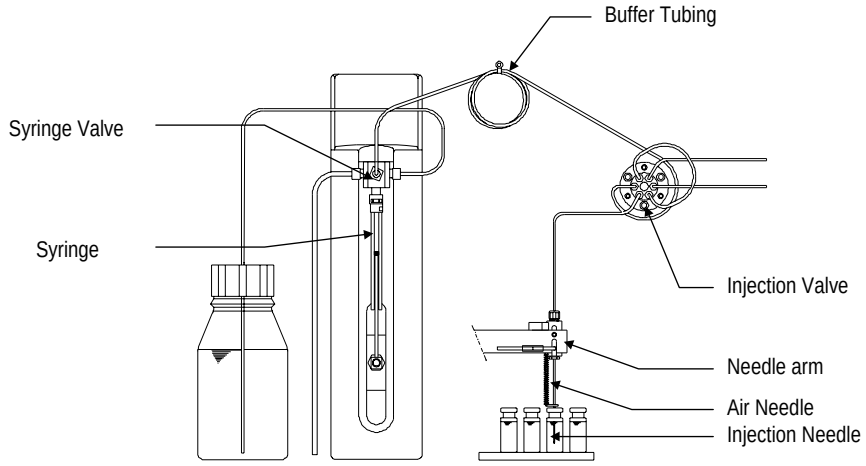


Abb. 48: Troubleshooting: AS 3900 Fließweg

In den Diagrammen auf den nächsten Seiten (Abb. 49 und Abb. 50) wird davon ausgegangen, dass das HPLC-System selbst fehlerfrei arbeitet.

Bitte beachten Sie, dass analytische Probleme auch durch externe Einflüsse auftreten können, z.B. bei Licht- oder Temperaturempfindlichen Proben. Deshalb ist es wichtig, dass die Applikation zuvor und ohne Änderungen problemlos läuft.

Keine Injektion

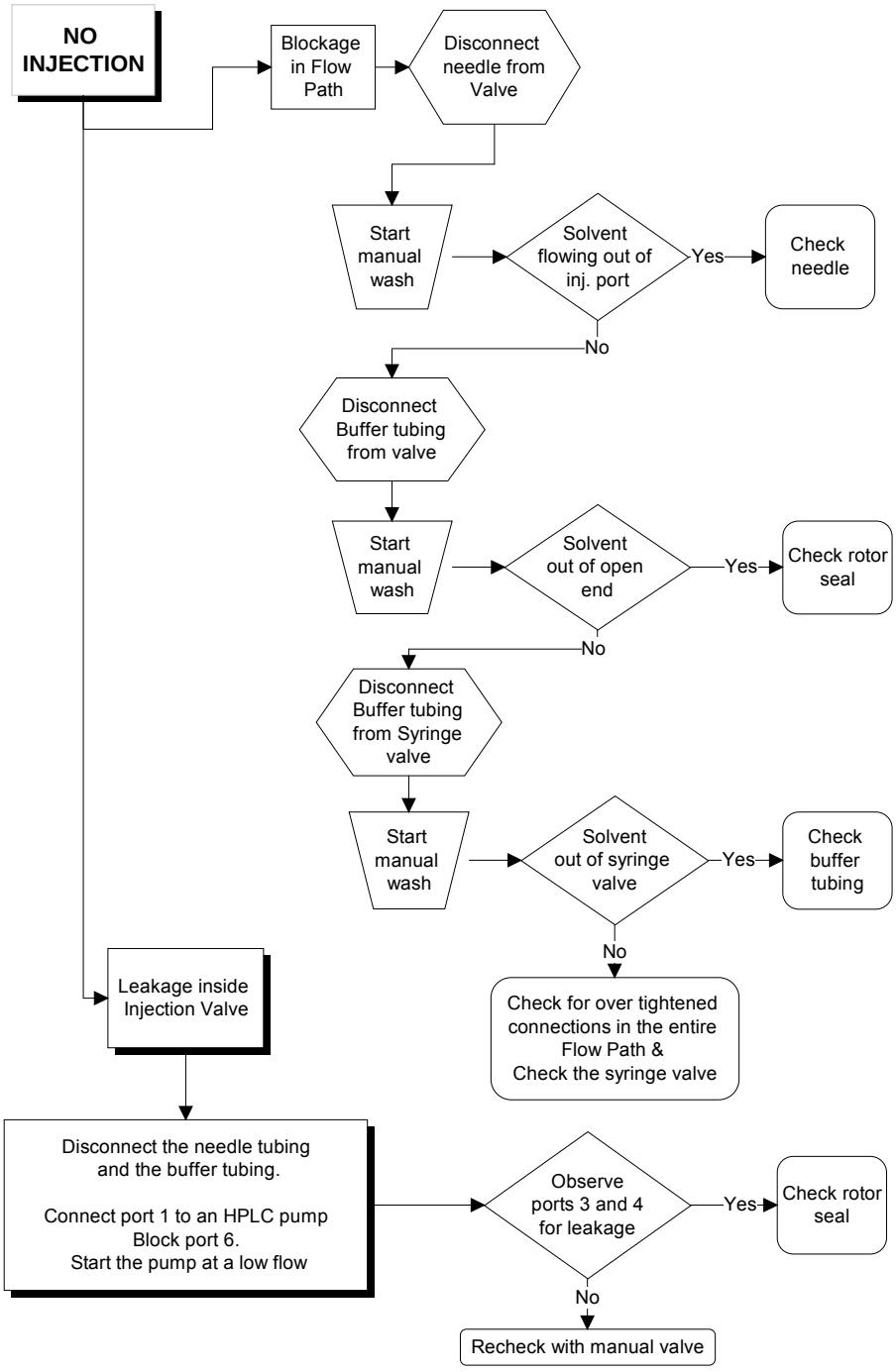


Abb. 49: Keine Injektion

Schlechte Reproduzierbarkeit

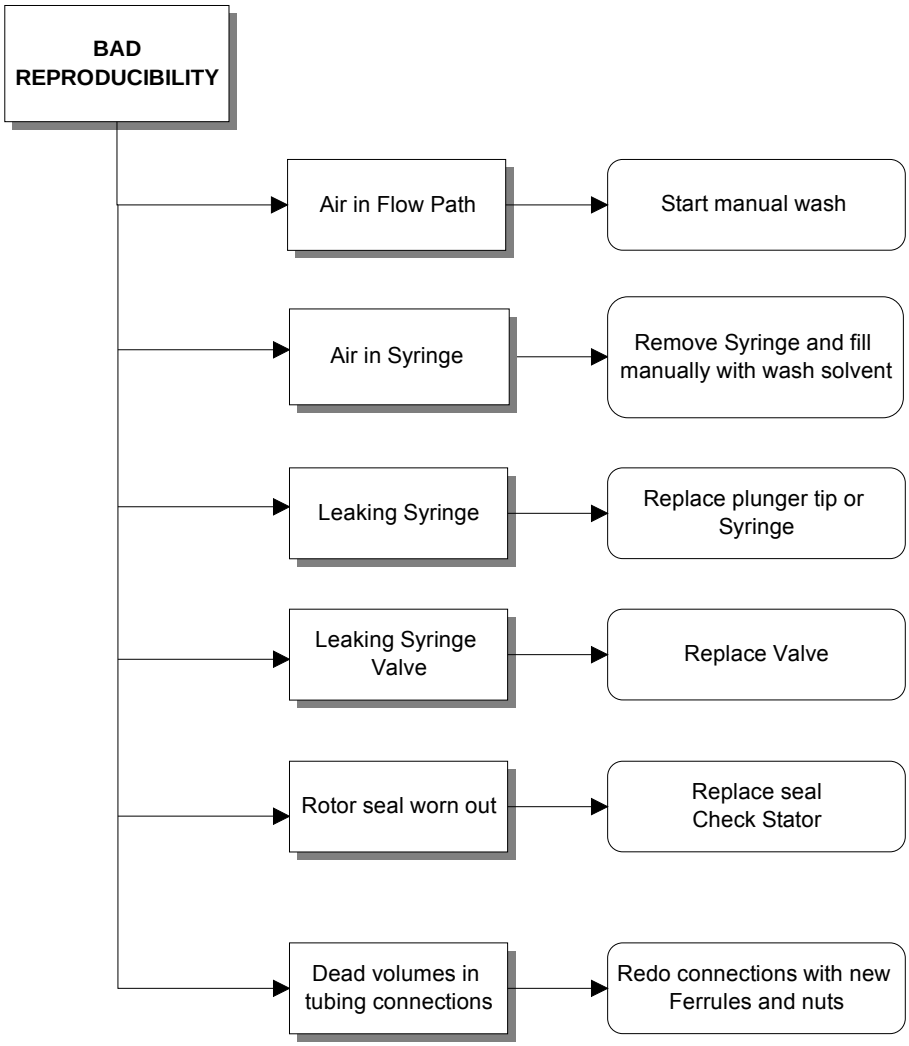

BAD REPRODUCIBILITY
Air in Flow Path
Start manual wash
Air in Syringe
Remove Syringe and fill manually with wash solvent
Leaking Syringe
Replace plunger tip or Syringe
Leaking Syringe Valve
Replace Valve
Rotor seal worn out
Replace seal Check Stator
Dead volumes in tubing connections
Redo connections with new Ferrules and nuts

Abb. 50: Schlechte Reproduzierbarkeit

ANHANG A: Zubehör

Artikelnr.	Beschreibung
0830.834	Probentelleroption erweiterte Kapazität, 96 Positionen für 1,5 ml Vials (12 mm OD)
0830.835	Großvolumen Probentelleroption, 24 Positionen für 10 ml Vials (22 mm OD), mit 1 ml Spritze und LSV Nadel
0830.836	Prep-Option (nachrüstbar), einschließlich Software, Großvolumenprobenteller, 2,5 ml Spritze und Valco Injektionsventil mit Großbohrung und 10 ml Probenschleife
0700.010	Flanged-tube fitting 1/8” (5 Stück)
0700.011	Flanged-tube fitting 1/16” (5 Stück)
0830.718	Luftnadel (inkl. Dichtung)
0830.303	Probennadel
0830.304	Serum Probennadel
0830.318	Silc-Stahl Probennadel
0830.711	Luftnadel für Serum Probennadel
0900.710	Pufferschlauch 500 µl
0900.711	Pufferschlauch 2000 µl
0900.712	Spritzenabfallschlauch
0900.713	Spritzenspülschlauch
0830.811	Injektionsmarkerkabel
0830.733	Valco Injektionsventil, Edelstahlversion, C2-2006 SPHMI, inkl. Bajonettanschluss
0830.734	Valco Injektionsventil, PEEK-Version, C2-2346 SPHMI, inkl. Bajonettanschluss
3796.043	Valco Rotordichtung für Injektionsventil C2-2006
3796.044	Valco Stator für Injektionsventil C2-2006
3796.048	Valco Rotordichtung PEEK für Injektionsventil C2-2346
3796.087	Valco PEEK Stator für Injektionsventil C2-2346
0700.004	Valco Ferrule (10Stück)
0700.005	Valco Verschraubung (10 Stück)
3796.046	Valco Probenschleife 5 µl mit Fittings
3796.029	Valco Probenschleife 20 µl mit Fittings
3796.030	Valco Probenschleife 200 µl mit Fittings
3796.086	Valco Probenschleife 100 µl mit Fittings
3796.031	Valco Probenschleife 500 µl mit Fittings
3796.088	Valco Probenschleife 20 µl PEEK mit Fittings
3796.085	Valco Probenschleife 100 µl PEEK mit Fittings
3796.083	Valco PEEK Verschraubung (finger fest)
3796.084	Valco Ferrule PEEK
0830.731	Rheodyne 7739 Injektionsventil, Edelstahlversion, inkl. Bajonettanschluss
0830.732	Rheodyne 9740 Injektionsventil, PEEK/Keramik Version, inkl. Bajonettanschluss
3796.035	Rheodyne Probenschleife 5 µl
3796.009	Rheodyne Probenschleife 10 µl
3796.010	Rheodyne Probenschleife 20 µl
3796.011	Rheodyne Probenschleife 50 µl
3796.012	Rheodyne Probenschleife 100 µl
3796.013	Rheodyne Probenschleife 200 µl

Artikelnr.	Beschreibung
3796.014	Rheodyne Probenschleife 500 µl
3796.015	Rheodyne Probenschleife 1000 µl
3796.076	Rheodyne Probenschleife 20 µl PEEK
3796.016	Rheodyne Probenschleife 100 µl PEEK
3796.091	Stator für Rheodyne 7739 Injektionsventil
3796.092	Vespel Rotordichtung für Rheodyne 7739 Injektionsventil
3796.093	Tefzel Rotordichtung für Rheodyne 7739 Injektionsventil
3796.095	PEEK Stator für Rheodyne 9740 Injektionsventil
3796.096	Keramik Stator face für Rheodyne 9740 Injektionsventil
3796.097	PEEK Rotordichtung für Rheodyne 9740 Injektionsventil
2140.151	Spritzenventil
2140.160	Luer lock Verbinder Spritzenventil
4400.250	250 µl Spritze
4400.000	1000 µl Spritze
0900.742	Kolbenaustauschkit für 250 µl Spritze (10Stück)
0700.019	Kolbenaustauschkit für 1000 µl Spritze (Stück 10)
	Vials, Dichtungen und Kappen
0788.751	Standard 2-CV Vials mit Klemmrand (200 Stück)
0788.752	Klemmkappen für standard 2-CV und 1.1-CTVG Vials. (1000 Stück)
0788.756	Chromacol 1.1-CTVG konische Vials mit Klemmrand (100 Stück)
0788.757	Chromacol TTS-312 Halter für 1.1-CTVG Vials (100 Stück)
0788.761	Standard 2-SV Schraubrandvials (100 Stück)
0788.762	Schraubkappen für standard 2-SV Vials (100 Stück)
0788.763	Septa für standard 2-SV Vials (100 Stück)
0900.750	Chromacol 10-CV, 10 ml Vials (125 Stück)
0900.751	Chromacol 20-ACB Klemmkappen für 10-CV Vials (125 Stück)
0900.752	Chromacol 20-ST101 Dichtungen für 10-CV Vials (125 Stück)
3760.403	Verschließzange für 11 mm OD Vials (standard).
3760.411	Verschließzange für 20 mm OD Vials

ANHANG B: Fehlermeldungen

Injektionsventil

ERROR 211	Injektionsventil ist nicht in zulässiger Position.
ERROR 212	Das Injektionsventil schaltet nicht innerhalb 1,5 s.
ERROR 213	Die Schaltzeit des Injektionsventils übersteigt 500 msec.

Spritze

ERROR 221	Das Spritzenventil hat nicht geschaltet.
ERROR 222	Die Spritze erreicht die Homeposition nicht in der Zeit.
ERROR 223	Die Spritzespindel vollzog nicht die korrekte Anzahl von Drehungen.
ERROR 224	Die Spritzespindel dreht sich nicht.
ERROR 225	Das Spritzenventil findet keine zulässige Position.

Injektionsnadel

ERROR 230	Der Probennadelarm konnte die Homeposition nicht erreichen oder verlassen (vertikal).
ERROR 231	Der Probennadelarm ist in einer unerlaubten Position für eine Abwärtsbewegung.
ERROR 232	Der Probennadelarm erreicht die Homeposition nicht in der Zeit (horizontal).
ERROR 233	Zu viele oder nicht ausreichende Anzahl von Schritten um das Ziel der horizontalen Nadelbewegung zu erreichen.
ERROR 234	Der Probennadelarm ist nicht in der vertikalen Homeposition für eine horizontale Bewegung.
ERROR 235	Der Probennadelarm ist in einer unerlaubten horizontalen Position.
ERROR 237	Der Probenteller ist in einer unerlaubten Position für eine Abwärtsbewegung der Probennadel.
ERROR 239	Der Vialsensor klemmt.

Probenteller

ERROR 251	Falsche Probentellerrotation.
ERROR 252	Kein Probenteller im AS 3900 installiert.
ERROR 253	Der Probennadelarm ist nicht in der vertikalen Homeposition während der Probentellerrotation.

Vials

ERROR 260	Kein Vial in der Zielposition. *Gilt nur, wenn in den Systemeinstellungen die Option Missing Vials auf **NO** gesetzt wurde (Siehe Seite 108) oder bei der Ausführung einer Mischmethode.*
ERROR 262	Kein Transportvial. *Gilt nur, wenn in den Systemeinstellungen die Option Missing Vials auf **NO** gesetzt wurde (Siehe Seite 108).*
ERROR 264	Kein Vial für Reagenz A.
ERROR 265	Kein Vial für Reagenz B.
ERROR 268	Kein Zielvial.
ERROR 269	Nicht genug Transportflüssigkeit wegen fehlenden Transportvials.
ERROR 270	Nicht genug Reagenz A verfügbar.
ERROR 271	Nicht genug Reagenz B verfügbar.

Elektronik

ERROR 275	Fehler bei der Initialisierung des AS 3900. Er kann nicht starten.

ANHANG C: Test Prozeduren

Einleitung

Um eine stets gleich bleibende hohe Qualität der Ergebnisse sicherzustellen, ist die Reproduzierbarkeit des Probenvolumens von entscheidender Bedeutung für die Genauigkeit der HPLC-Analysenergebnisse.

Aus diesen Gründen ist die regelmäßige Überprüfung der korrekten Autosampler-Funktion wichtig. Diese Arbeitsanleitung erläutert die Durchführung der entsprechenden Tests.

Wird im Laufe der Überprüfung festgestellt, dass der Autosampler nicht die vorgegebenen Spezifikationen erfüllt, muss er als defekt gekennzeichnet werden und darf nicht weiter für die Analyse eingesetzt werden. Erst nach erfolgter Wartung bzw. Reparatur und dem Nachweis, dass die vorgegebenen Spezifikationen erfüllt werden, kann der Autosampler wieder für die Analytik eingesetzt werden (siehe Seite 145).

Festlegung des Überprüfungsintervalls

Die routinemäßige Überprüfung der Funktion und technischen Spezifikationen ist in gewissen zeitlichen Abständen durchzuführen, die von der Intensität der Nutzung abhängt. Folgende zeitliche Abstände wurden festgelegt:

Durchschnittliche Nutzung über 1 Tag bis maximal 5 Tage pro Woche: alle 6 Monate

Intensive Nutzung, d.h. Tag/Nacht oder mehr als 5 Tage pro Woche: alle 3 Monate

Betrieb mit Pufferlösungen oder sonstigen Salzlösungen: alle 3 Monate.

Benötigte Materialien

Eluent :	Deionisiertes Wasser (HPLC-Qualität) Der Eluent muss entgast sein, um Funktionsstörungen durch vorhandene Luftblasen zu vermeiden.
Testlösung:	50 ppm Uracil gelöst in deionisiertem Wasser (HPLC-Qualität)
Waschlösung:	Wasser : Isoropanol 8:2 (HPLC-Qualität)

HPLC Pumpe

Restriktionskapillare, um einen Druck von mindestens 15 bar bei 1 ml/min Fluss aufzubauen;

UV-Detektor (Messzelle: 10 mm oder geringere Schichtdicke);

Schreiber, Integrator oder Chromatographie-Software (Datenrate: min. 5 Hz).

Die genannten Komponenten sind nach folgendem Schema (Abb. 51) zu konfigurieren.

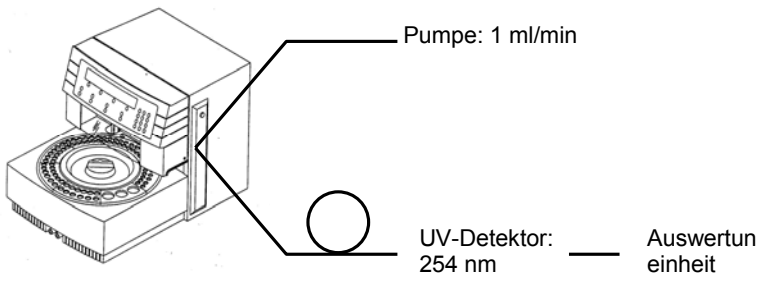


Abb. 51: Testeinheit

Überprüfung des Autosamplers 3900

Spezifikationstests

Für alle Tests wird ein System aus oben genannten Komponenten aufgebaut. Die Vorgaben für den 3900 Autosampler beziehen sich auf die analytische Standardversion, die mit einer 100 µl Probenschleife und einer 250 µl Spritze ausgestattet ist. Die Flasche für die Waschlösung am Autosampler ist mit 80% Wasser / 20% i-Propanol gefüllt.

1. Reproduzierbarkeit des Probenvolumens

Dazu wird die vorbereitete Uracil-Lösung (50 ppm) wiederholt mit einem Injektionsvolumen von 10 µl injiziert.

Stellen Sie folgende Systemparameter am Autosampler 3900 ein:

System Settings/Adjustments:

Loop volume:	100µl (standard design)
Needle tube volume:	15 µl
Syringe volume:	250 µl
Dispenser speed:	normal
Skip missing vial:	yes
Head space pressure:	yes

Programmieren Sie folgende Methoden und Serien am Autosampler:

Method 1

Injection mode:	Partial loop fill
Flush volume:	30 µl
Injections/vial:	9
Inj. volume:	10 µl
Analysis time:	1 min
Wash:	None

Series 1

Method number:	1
Calibration vial:	No
First sample vial:	01
Last sample vial:	01

Analytische Parameter:

Flussrate:	1 ml/min
UV-Detektor Wellenlänge:	254 nm

Stellen Sie ein Gläschen, gefüllt mit mindestens 500 µl Probenlösung, in das Probentablett des 3900 auf Position 1. Starten Sie danach die Methodenserie, die Sie am Autosampler programmiert haben. Es werden jeweils 10 µl injiziert. Dies wird 9-mal wiederholt. Es sollte sich ein Chromatogramm ähnlich wie in Abb. 52 ergeben.

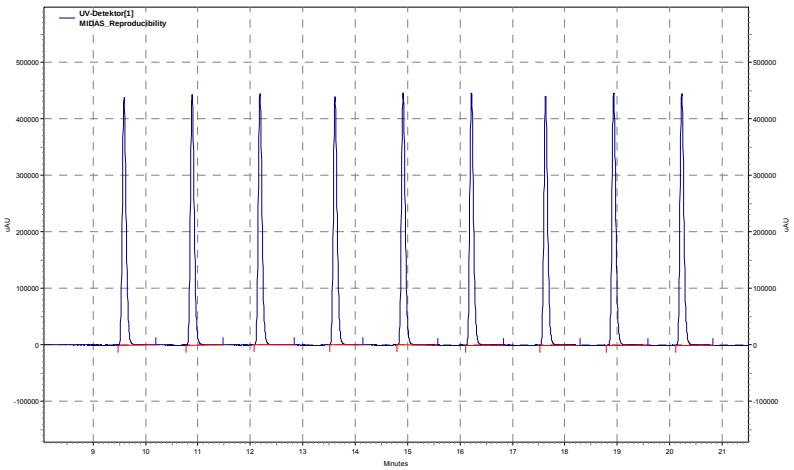


Abb. 52: Reproduzierbarkeit des Probenvolumens

Der arithmetische Mittelwert der integrierten Peakflächen wird gebildet. Daraus wird anschließend der Variationskoeffizient VK_1 berechnet. Als Berechnungsgrundlage dienen die folgenden Formeln:

$$\overline{Peakareas} = \frac{\sum_{i=1}^{n} Peakareas_i}{n}$$

(arithmetischer Mittelwert)

$$\sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{\sum (Peakarea_i - \overline{Peakareas})^2}{n-1}}$$, wobei i = 1 - 9

(Standardabweichung)

$$VK_1 [\%] = \frac{\sigma_{n-1}}{peakarea} \times 100$$

(Variationskoeffizient)

Der Variationskoeffizient VK sollte ≤ 0,5 % sein.

Dokumentieren Sie das Ergebnis auf dem Formular "Test Report“.

2. Prozentuale Probenverschleppung

Die Systemeinstellungen und analytischen Parameter sind wie unter Test 1 festzulegen.

Zur Bestimmung der prozentualen Probenverschleppung werden 3-mal im Wechsel jeweils 10 µl Probenlösung (Vialposition 1) und 10 µl Eluent (Vialposition 2) aus Gläschen 1 und 2 injiziert.

Dazu müssen am Autosampler eine neue Methode (Nr. 2) und 3 neue Serien (Nr. 2 bis 4) programmiert werden. Beachten Sie dabei, dass die Waschfunktion für die Injektionsnadel zwischen den Injektionen aktiviert sein muss.

<u>Programmieren Sie folgende Methoden und Serien am Autosampler:</u>

Method 2

Injection mode:	Partial loop fill
Flush volume:	30 µl
Injections/vial:	1
Inj. volume:	10 µl
Analysis time:	1 min
Wash:	Yes

Series 2 to 4

Method number:	2
Calibration vial:	No
First sample vial:	01
Last sample vial:	02

Da aus Vial 2 der Eluent injiziert wird, sollte möglichst kein bzw. nur ein kleiner Peak erkennbar sein.

Es sollte sich ein Chromatogramm wie in Abb. 53 ergeben.

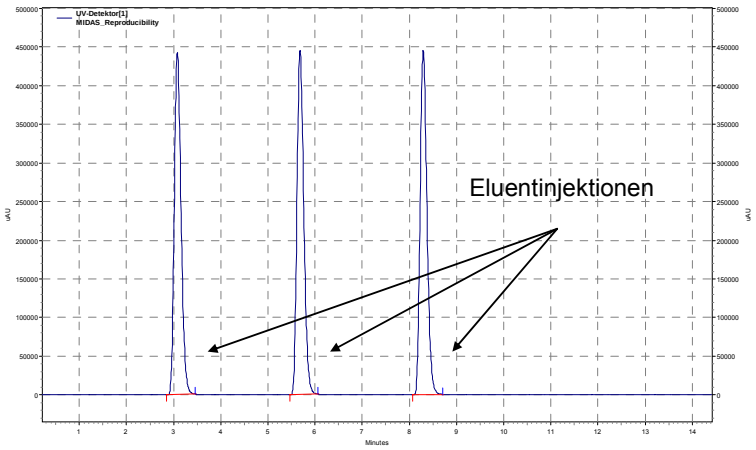


Abb. 53: Probenverschleppungstest

Die entsprechend ermittelten Peakflächen (Mittelwert) für die Eluenteninjektion werden ins Verhältnis zu den Peakflächen (Mittelwert) des Uracilpeaks gesetzt. Die prozentuale Probenverschleppung PV ergibt sich dann aus folgender Gleichung:

$$PV\,[\%] = \frac{\sum_i \frac{Peakarea_{i\,Eluent}}{3}}{\sum_i \frac{Peakarea_{i\,Testsolution}}{3}} \times 100 \quad \text{(Probenverschleppung)}$$

Die prozentuale Probenverschleppung PV sollte ≤ 0,3 % sein.

Dokumentieren Sie das Ergebnis auf dem Formular "Test Report".

3. Linearität

Die Systemeinstellungen und analytischen Parameter sind wie unter Test 4.1.1 festzulegen.

Es werden jeweils 3 mal 10, 20, 30, 40 und 50 µl der Testlösung Uracil aus Vial 1 injiziert. Dazu müssen am Autosampler 5 Methoden mit unterschiedlichen Injektionsvolumina programmiert werden. Diese 5 Methoden sind dann bei der Programmierung der Serien 5 bis 9 zu verwenden. Stellen Sie sicher, dass sich genügend Testlösung in Vial 1 (mindestens 800 µl) befindet.

Programmieren Sie folgende Methoden und Serien am Autosampler:

Method 3-7

Injection mode:	Partial loop fill
Flush volume:	30 µl
Injections/vial:	3
Inj. volume:	10 µl (20, 30, 40, 50 µl)
Analysis time:	1 min
Wash:	None

Series 5-9

Method number:	3 (-7)
Calibration vial:	No
First sample vial:	01
Last sample vial:	01

Es ergibt sich ein Chromatogramm wie in Abbildung Abb. 54.

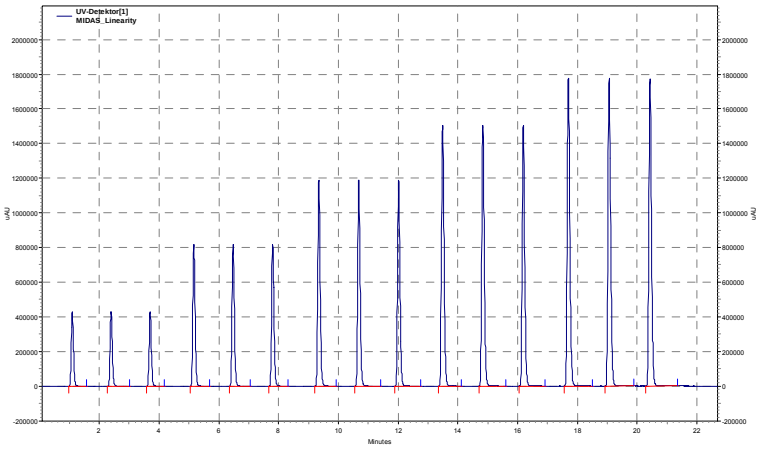


Abb. 54: Linearitätstest

Zur Auswertung wird der Korrelationskoeffizient r der Regressionsgeraden aus den Messwerten der Peakflächen und des Injektionsvolumens nach folgender Gleichung bestimmt:

$$r = \frac{\sum x_i y_i - n\bar{x}\bar{y}}{\sqrt{\left(\sum x_i^2 - n\bar{x}^2\right)\left(\sum y_i^2 - n\bar{y}^2\right)}}$$ (Korrelationskoeffizient)

yi Y-Wert von Messwert i (Injektionsvolumen)

xi X-Wert von Messwert i (Peakfläche)

$\bar{y}$ arithmetisches Mittel von Y über alle n Messwerte

$\bar{x}$ arithmetisches Mittel von X über alle n Messwerte

n Anzahl der Messwertepaare

Der Korrelationskoeffizient r sollte ≥ 0,998 sein.

Dokumentieren Sie das Ergebnis auf dem Formular "Test Report".

4. Mischtest

Der Mischtest kann nur mit dem Standardprobenteller <84 + 3> durchgeführt werden, da mit den anderen Probentellern die Programmierung am Autosampler für die Verdünnung von Proben nicht möglich ist.

Die Systemeinstellungen und analytischen Parameter sind wie unter Test 1 festzulegen, Seite 139.

Für den Mischtest werden ein mit Testlösung gefülltes Probengläschen (Vial Pos. 1), ein leeres Gläschen (Destination Vial Pos. 2) und ein mit Eluent gefülltes Reagensgläschen (Reag-A = Pos. 86) in den Teller des Autosamplers gestellt.

Der Autosampler ist so zu programmieren, dass eine 1:10 Verdünnung der Probe im leeren Gläschen hergestellt wird. Da nur maximal 9 Methoden und 9 Serien am Autosampler programmiert und gespeichert werden können, sind vorherige Methoden und Serien zu überschreiben.

Nach der Verdünnung werden aus beiden Probengläschen jeweils 10 µl mit dreimaliger Wiederholung injiziert.

Programmieren Sie folgende Methoden und Serien am Autosampler:

Method 1:

Injection mode:	Partial loop fill
Flush volume:	30 µl
No. of inj./vial:	3
Injection volume:	10 µl
Analysis time:	0:01:00
Wash between:	No

Method 2:

Injection mode:	Partial loop fill
Flush volume:	30 µl
No. of inj./vial:	3
Injection volume:	10 µl
Analysis time:	0:01:00
Wash between:	No

1) Add 90 µl Reag-A to DESTINATION
2) Add 90 µl Reag-A to DESTINATION
3) Add 40µl SAMPLE to DESTINATION
4) Add 90 µl Reag-A to DESTINATION
5) Add 90 µl Reag-A to DESTINATION
MIX 3 times with 250 µl
END OF MIX METHOD

Series 1:

Method:	1
First vial:	01
Last vial:	01

Series 2:

Method:	2
First vial:	01
Last vial:	01
Destination vial:	02

Nach Beendigung der Messung sollte sich ein Chromatogramm ähnlich wie in Abb. 55 ergeben.

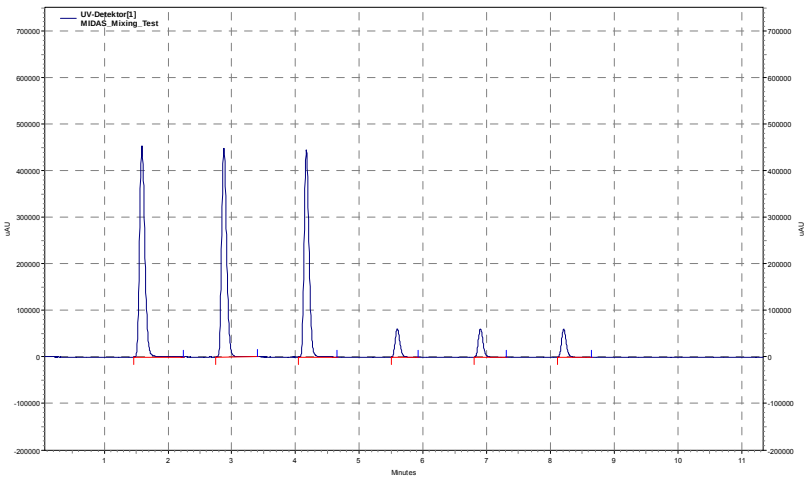


Abb. 55: Verdünnungstest

Der arithmetische Mittelwert der Messwerte (Peakflächen) wird für jedes Gläschen gebildet und die Variationskoeffizienten (VK2/3) für beide Gläschen bestimmt (s. Berechnung Punkt 1).

Aus dem Verhältnis der Mittelwerte der Peakflächen der Originalprobe und der Verdünnung wird der Verdünnungsfaktor F10 ermittelt.

Der Variationskoeffizient VK2 für das 1. Gläschen (Probe) sollte ≤ 0,5 % sein.

Der Variationskoeffizient VK3 für das 2. Gläschen (Verdünnung) sollte ≤ 0,5 % sein.

Der Verdünnungsfaktor F10 sollte im folgenden Bereich liegen: 9.85 < x > 10.25.

Dokumentieren Sie das Ergebnis auf dem Formular "Test Report".

Dokumentation und Archivierung

Für jeden Test wird das Ergebnis im Testreport-Formular eingetragen. Außerdem werden die Gerätenummer (z.B. Seriennummer oder Inventarnummer) des überprüften Gerätes, das Datum der Überprüfung, das Datum der nächsten Überprüfung und der Name des Prüfers eingetragen. Das Testreport-Formular wird anschließend im Gerätelogbuch chronologisch abgeheftet.

Wenn die Überprüfung ergeben hat, dass das Gerät die Spezifikationen erfüllt, wird das Gerät mit einem entsprechenden Etikett oder Schild (z.B. in grüner Farbe) versehen, auf dem die Gerätenummer, das Datum der Überprüfung, das Datum der nächsten Überprüfung sowie der Name des Prüfers angegeben sind.

Wenn die Überprüfung ergeben hat, dass das Gerät die Spezifikationen nicht erfüllt, wird das Gerät mit einem entsprechenden Etikett oder Schild (z.B. in roter Farbe mit der Aufschrift "DEFEKT") versehen, auf dem Gerätenummer, Datum der Überprüfung sowie der Name des Prüfers angegeben sind. Das Gerät darf nicht mehr eingesetzt werden, bis es nach einer geeigneten Wartung oder Reparatur wieder den Spezifikationen genügt.

Alle Dokumente zu Geräteüberprüfungen, d.h. die Arbeitsanweisungen sowie Testberichte (Testreports), sind entsprechend den Vorschriften des Qualitätssicherungssystems zu archivieren.

Beim Hersteller werden Geräteunterlagen, Gerätehandbücher, Service-Handbücher, Service-Informationen und Teilelisten archiviert, die als Referenz zur Verfügung stehen.

TEST REPORT

Modul:	Autosampler
Typ: 3900	analytisch ☐ Cool ☐ Bio ☐
Gerätenummer:	

Funktionstest

).	Prüfung von	Einstellung	Spezifikation	Ergebnis
	Reproduzierbarkeit	10 µl Testlösung aus 6 Gläschen jeweils 3-mal injizieren.	VK_1: = 0.5%	
	Verschleppung	10 µl der Testlösung bzw. des Eluenten im Wechsel 3-mal injizieren.	PV: = 0.3%	
	Linearität	10, 20, 30, 40 und 50 µl der Testlösung jeweils 3-mal injizieren.	r: ≥ 0.998	
	Mischtest	10 µl der Testlösung und einer vom Autosampler durchgeführten 1:10 Verdünnung jeweils 3-mal injizieren.	VK_2: = 0.5% VK_3: = 0.5% F_{10} 9.85 < x > 10.25	

* nur für den Autosampler 3900 mit dem Probenteller <84 + 3>.

Datum: .....

Nächste Überprüfung am: .....

Prüfer: ..... Unterschrift: ……

ANHANG D: AS 3900, Prep

Einfach durch die Auswahl von **<PREP>** in den Systemeinstellungen kann der AS 3900 genutzt werden, um Proben in ein präparatives LC-System oder andere Anwendungen wo größere Probenvolumina erforderlich sind, zu injizieren.

Die Kombination von großen Probenvials (10 ml) und einer 2.5 ml Großvolumenspritze erlaubt schnelle Injektionen großer Volumina mit hoher Reproduzierbarkeit. Der Probenverlust beträgt nur 45 µl. das installierte Ventil mit erweiterter Bohrung (0,75 mm) und einer 10 ml Probenschleife ermöglicht Injektionen vom µl bis in den ml Bereich mit dem gleichen Autosampler. Für den im Prep-Modus betriebenen AS 3900 stellen Flussraten bis 200 ml/min kein Problem dar.

Wird die Prep-Option ab Werk geordert, können Sie die Installations-hinweise überspringen.

Haben Sie die Prep-Option als Nachrüstkit gekauft, verfahren Sie nach den unten gegebenen Installationshinweisen.

Spezifikationen des AS 3900, prep

In einigen Positionen unterscheiden sich die Spezifikationen des AS 3900, prep vom standard Autosampler. Die Unterschiede sind unten dargestellt.

PROBENAUFGABE	
Probenkapazität	LSV Probenteller: 24 Vials a 10 ml (LSV)
Probenvolumen	Nicht programmierbar, das Injektionsvolumen definiert das angesaugte Probenvolumen
Spritze	2500 µl
ANALYTISCHE LEISTUNG	
Reproduzierbarkeit	RSD <= 1.0% für partielle Schleifenfüllung bei Injektionsvolumina >10 µl bis zu 50% der installierten Probenschleife.
Verschleppung	< 0.1% mit programmierter Nadelspülung
PROGRAMMIERUNG	
Methoden	9 Methoden programmierbar
Injektionsmethode	nur partielle Schleifenfüllung
Injektionsvolumina	1 µl – 19,999 µl, mit 1 µl Inkrementen (praktisch durch das Vialvolumen auf ~10ml begrenzt)
Mischmethoden	nicht verfügbar
OPTIONEN	
Biokompatibles Ventil	nicht verfügbar

Installation des AS 3900, prep

Zur Installation der Prep-Option an einem Standard AS 3900 führen Sie folgende Schritte aus:

- Bei Firmwareversionen kleiner als V2.00, muss als erster Schritt das EPROM durch das im Kit mitgelieferte ausgetauscht werden, siehe Abschnitt Firmwareaustausch auf Seite 149.
- Tauschen Sie das Standard Injektionsventil gegen das spezielle AS 3900 Prep-Ventil (VALCO #C2-3006 SPHMI) aus, siehe Abschnitt Austausch des Injektionsventils auf Seite 121.
- Tauschen Sie die Standard Probennadel, die Luftnadel und den Pufferschlauch gegen die entsprechenden Teile aus dem AS 3900 Prep Kit aus siehe Abschnitt Probennadel Seiten 128 und 129.
- Erneuern Sie alle Kapillar- und Schlauchanschlüsse am Injektionsventil wie auf Seite 96 beschrieben.
- Tauschen Sie die Standardspritze gegen die 2500 µl Spritze aus; siehe Abschnitt Spritzenwechsel auf Seite 129.
- Installieren Sie den 24 Vials (LSV) Probenteller, siehe Abschnitt Einsetzen des Probentellers in den AS 3900 auf Seite 87.
- Wählen Sie in den Systemeinstellungen den Prep-Modus, siehe Abschnitt Prep-Modus Einstellungen auf Seite 111.

Table 8: Schlauchverbindungen des AS 3900, Prep-Option.

Schlauch	Material und Dimensionen	Label
LSV Probennadel und Schlauch	Edelstahlkapillarrohr 70mm x 0.81mm OD x 051 mm ID Tefzel Schlauch; 155 mm x $^{1}/_{16}$" OD x 0.50 mm ID	45 µl
Pufferschlauch vom Injektionsventil zum Spritzenventil	PTFE Schlauch; 2550 mm x $^{1}/_{16}$" OD x 1.0 mm ID	2000 µl

Injektionen mit dem AS 3900, prep

Die Injektionsroutine unterscheidet sich vom Standard Autosampler AS 3900. Der AS 3900, prep ist ausschließlich für Injektionen mit partieller Schleifenfüllung vorgesehen.

Deshalb die folgenden Hinweise, die sicherstellen sollen, dass Sie die best mögliche Injektionsleistung des Gerätes erhalten.

Stellen Sie sicher, dass das programmierte Injektionsvolumen nicht größer als 50% der installierten Probenschleife ist. Anderenfalls kann die spezifizierte Genauigkeit und Reproduzierbarkeit nicht gewährleistet werden.

Durch die Software wird das Injektionsvolumen nicht mit der Installierten Probenschleife verglichen. Sie können daher auch Injektionsvolumina größer als 50% des Probenschleifenvolumens programmieren.

Die Vorspülung wird im Prep-Modus nicht ausgeführt. Die Ausdehnung der Flüssigkeit in der Probenschleife beim Umschalten von INJECT auf LOAD würde Probenanteile aus Nadel und Schlauch drücken. Um das Volumen der Nadel und des Probenschlauches zu kompensieren, wird das programmierte Schlauchvolumen (voreingestellt sind 45µl) zusammen mit dem angegebenen Probenvolumen angesaugt.

Firmwareaustausch

Die Firmware des AS 3900 ist auf einem EPROM gespeichert, dass sich auf der CPU Platine befindet.

ACHTUNG!
Das EPROM ist hoch empfindlich gegenüber elektrostatischen Entladungen. Beachten Sie die Vorsichtsmaßnahmen gegen elektrostatische Entladungen für die Handhabung sensibler Geräteteile.

Tauschen Sie das EPROM wie folgt aus:

- Notieren Sie sich alle programmierten Methoden, Systemeinstellungen und Serien, die Sie wieder verwenden möchten.
- Schalten Sie den AS 3900 aus.
- Entfernen Sie die 4 mit (A) markierten Schrauben an der Geräterückwand, siehe Abb. 56.
- Öffnen Sie die Geräterückseite.
- Entfernen Sie das alte EPROM und setzen Sie das neue auf der CPU Platine ein, siehe Abb. 57.

Stellen Sie sicher, das alle Pins des EPROM richtig im IC-Sockel sitzen.

Die kleine Markierung an der EPROM Oberseite muss in die gleiche Richtung zeigen wie die auf dem IC-Sockel.

- Setzen Sie die Rückwand wieder ein und schrauben sie fest.
- Überprüfen sie **alle Systemeinstellungen** nach dem Einbau des neuen EPROM.

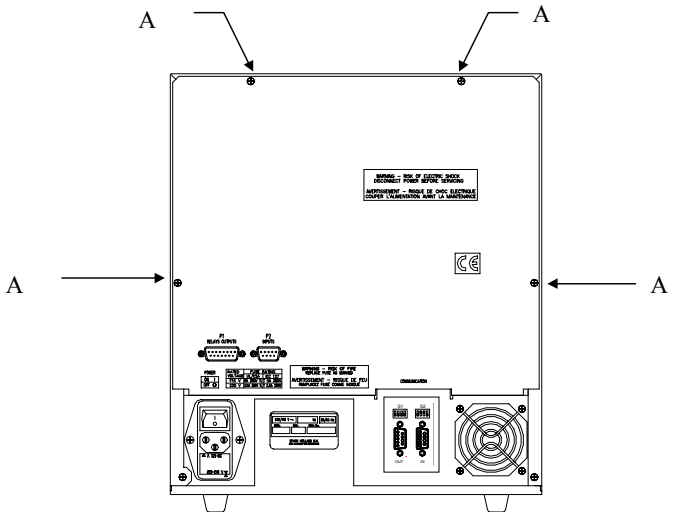


Abb. 56: Rückseite des Autosamplers AS 3900

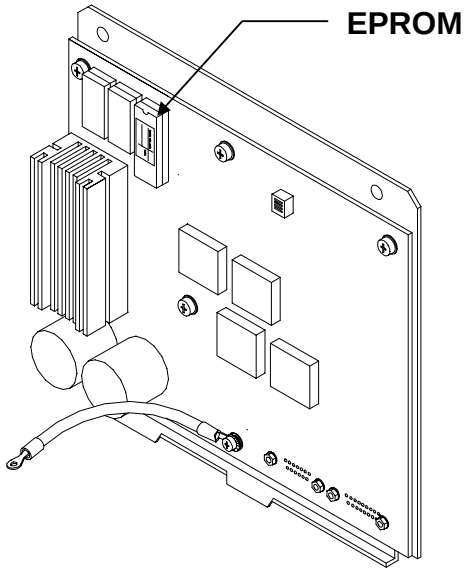


Abb. 57: Einsetzen des EPROM auf der CPU Platine des AS 3900

Technische Daten

Probenaufgabe	
Standard:	84 Gefäße à 1,8 ml und 3 Gefäße à 10 ml für zusätzl. Lösungen;
optional:	96 Gefäße à 1,8 ml
Präpversion:	24 Gefäße à 10,0 ml;
Cool-Option:	4-15 ± 2°C
Injektionsvolumen	
Standardprobenschleife:	20 µl, andere Größen erhältlich 1 µl bis 5.000 µl in 1 µl-Schritten
partielle Schleifenfüllung:	1µl – 50% des Schleifenvolumens
µL pick-up:	max. 2477 µl
Injektionen pro Gefäß	max. 9
Analysenzeit	max. 9 h 59 min 59 s
Nadelspülung	programierbar
Überdruck	ca. 0,05 MPa, eingebauter Kompressor
Injektionsventil	
Standard:	Edelstahl
Bio-Option:	PEEK
Schaltzeit	weniger als 100 ms
Genauigkeit	
Volle Schleifenfüllung:	RSD <0.3%
Partielle Schleifenfüllung:	RSD<=0.5%
µL pick-up:	RSD<=1.0%
Verschleppung	weniger als 0,2% (mit Nadelspülung)
Ausgänge	Injektionsmarker (NO/NC-Kontakt, TTL); Stop I/O (TTL); Gefäß Nummer BCD (TTL); zwei programmierbare externe Ereignisse (open collector, beide ebenfalls invertiert vorhanden); 24V DC Stromversorgung (0,5 A max.)
Eingänge	Nächste Injektion; nächstes Gefäß; Einfrieren der Analysenzeit; Stop I/O (alle TTL); Serielle Schnittstelle RS-232
Anzeige	Graphisches LCD mit Tastatur
Stromversorgung	115 / 230 V, 50 / 60 Hz
Abmessungen	300 x 340 x 500 mm (B x H x T) /
Gewicht	19,0 kg (Cool 22,0 kg)

Warranty statement

The warranty period of the Smartline Autosampler 3900 is 12 months beginning from the date of dispatch from Berlin. Operation inconsistent with manufacturer's instructions or damage caused by unauthorized service personnel are excluded from guarantee. Damage caused by blockages and wear and tear parts such as fuses and seals are not covered by the guarantee. Defective autosamplers should be sent to the manufacturer for repair.

Wissenschaftliche Gerätebau
Dr. Ing. Herbert KNAUER GmbH
Hegauer Weg 38
D-14163 Berlin
Tel: 030 – 809 727 – 0
Fax: 030 – 801 50 10
e-mail: info@KNAUER.net
www.KNAUER.net

If we find a defect covered by the guarantee, repair or replacement, at our discretion, will be carried out free of charge. Packing and transport costs are borne by the purchaser.

Gewährleistungsbedingungen

Die werksseitige Gewährleistung für den Smartline Autosampler 3900 beträgt ein Jahr ab Versanddatum. Unsachgemäße Bedienung des Gerätes und Folgen einer Fremdeinwirkung sind hiervon ausgenommen. Ebenso sind Verschleißteile wie z. B. Sicherungen, Dichtungen, Lampen und Verstopfungsschäden sowie Verpackungs- und Versandkosten von der Gewährleistung ausgenommen. Bitte wenden Sie sich bei Fehlfunktionen Ihres Smartline Autosamplers 3900 direkt an das Herstellerwerk:

Wissenschaftliche Gerätebau
Dr. Ing. Herbert KNAUER GmbH
Hegauer Weg 38
D-14163 Berlin
Tel: 030 – 809 727 – 0
Fax: 030 – 801 50 10
e-Mail: info@KNAUER.net
www.KNAUER.net

Die Verpackung unserer Geräte stellt einen bestmöglichen Schutz vor Transportschäden sicher. Prüfen Sie dennoch jede Sendung sofort auf erkennbare Transportschäden. Bitte wenden Sie sich im Falle einer unvollständigen oder beschädigten Sendung innerhalb von drei Werktagen an das Herstellerwerk. Bitte unterrichten Sie auch den Spediteur von etwaigen Transportschäden.

Declaration of conformity

Konformitätserklärung

Manufacturer's name and address:
Herstellername und -adresse

Wissenschaftliche Gerätebau
Dr. Ing. Herbert KNAUER GmbH
Hegauer Weg 38
14163 Berlin, Germany

Smartline Autosampler 3900
in different versions

Order Numbers, Bestellnummern: **A 1508x**

complies with the following requirements and product specifications:

- Low Voltage Ordinance (73/23/EWG)
  EN 61010-1 (08/2002)
- Engineering Guidelines (89/392/EWG)
- EMC Ordinance (89/336/EWG)
  EN 6100-3-2 (10/2006)
  EN 61326-1 (10/2006)

entspricht den folgenden Anforderungen und Produktspezifikationen:

- Niederspannungverordnung (73/23/EWG)
  EN 61010-1 (08/2002)
- Maschinenrichtlinie (89/392/EWG)
- EMV-Verordnung (89/336/EWG)
  EN 6100-3-2 (10/2006)
  EN 61326-1 (10/2006)

The product was tested in a typical configuration.
Das Produkt wurde in einer typischen Konfiguration geprüft.

Berlin, 2007-03-30

Alexander Bünz (Managing Director)

The CE Shield is attached to the rear of the instrument.
Das Konformitätszeichen ist auf der Rückwand des Gerätes angebracht.

CE

INDEX(english)

A

Air needle 55
Air segment 35
Analysis time 39
AS 3900 logbook 34
AS 3900, preparative 73

B

Buffer tubing 53

C

Calibration vials 44
Column thermostat 33
Control I/O connections 27–28
  Contact closure output connector (P1) 27
  RS232 connector 27
  TTL input connector (P2) 27
Copy a method 34

D

Destination vials 44
Device identifier 37
Direct control functions
  Maintenance 32
  Manual wash 32
  Needle arm movement 32
  Serial communication mode 32
  Temperature control 33
Direct Control functions 32
Direct functions 31

E

Erase a method 34
Error codes 63

F

Firmware 75
Fluid connections 22
  HPLC connections 23
  Syringe 24
  Wash solvent 23
  Waste tubing 23
Flush volume 39
Freeze input 28
Freeze input active 37
Full loop injection 39, 52
Fuses 21

H

Hard function keys
  [CL], Clear 31
  [E], Enter 31
  [Escape] 31
  [Hold/Cont.] 31
  [Menu] 31
  [Methods] 31
  [Priority] 31
  [Series] 31
  [Start/Stop] 31
  [System] 31
Headspace pressure 35
HPLC connections 23

I

Injection
  AS 3900, prep 75
Injection marker pulse length 37
Injection mode
  µl Pick-up injection 39
  Full loop injection 39
  Partial loopfill injection 39
Injection principle 14
  µl Pick-up injections 18–20
  Full loop injections 15–16
  Partial loopfill injections 16–18
Injection program 38
  Analysis time 39
  Flush volume 39
  Injection volume 39
  Number of injections per vial 39
Injection valve (Valco) 47
Injection valve replacement 47
Injection volume 39, 52
Input edge next injection 37
Inspection Intervals 65
Installation
  AS 3900, prep 74
Instrument description
  Exploded view of AS 3900 13
  Rear side of AS 3900 14
Instrumentbeschreibung
  Rückansicht des AS 3900 14

K

Keyboard 30
  Hard function keys 30
  Numeric keys 30
  Soft function keys 30

L

Linearity 68
List of accessories 61
Loading the sample tray 27

M

Maintenance 32
Manual injection valve switching 32
Manual wash 32
Method programming 38
Mix program 38, 42
  Delete step 42
  Insert step 42
Mixture Test 69

N

Needle arm movement 32
Next injection input 28, 45

Number of injections per vial 39

O

Oven setpoint 33

P

Partial loopfill injection 39, 52, 53
PASA™ 11
Pick-up injection 39, 52, 53
Power connections 21
Priority sample 46
Programming Series
  Calibration vials 44
  Destination vials 44
  Method number 43

Q

Quick connection mounting 47
Quick start 5–9

R

Remote Control 45
Replace air needle 55
Replacing the sample needle 54
Replacing the syringe 55
Reset outputs after last Series 37
Rheodyne Model 7739 valve 49
Rheodyne Model 9740 valve 50
Run screen information 45
Run sequence 43

S

Sample Carry-Over 67
Sample needle 54
Sample needle penetration depth 55
Sample tray cooling 33
Sample Volume Reproducibility 66
Serial communication mode 32
  Panic stop 33
Series 43
Skip missing vials 35
Specification Test 66
Start a Run 45
Stop a Run 45
Stop input 28
Switch the oven on 33
Switch the tray cooling on 34
Syringe 24, 55
Syringe speed 35
Syringe volume 35
System Settings 34
  Air segment 35
  Device identifier 37
  Freeze input active 37
  Headspace pressure 35
  Injection marker pulse length 37
  Input edge next injection 37
  Reset outputs after last Series 37
  Skip missing vials 35
  Syringe speed 35
  Syringe volume 35
  Tray type 36
  Use calibration vials 36
  Use Prep mode 37
  Vial type 36
  Volume of installed loop 35

T

Technical Data 77
Temperature control
  Column thermostat 33
  Sample tray cooling 33
Test
  Linearity 68
  Mixture 69
  Report 72
  Sample Carry-Over 67
  Sample Volume Reproducibility 66
  Specification 66
Test Procedure 65
Test unit 65
Timed events program 38, 40
Tray cooling setpoint 34
Tray type 36
TTL input connector (P2)
  Freeze input 28
  Next inject input 28
  Stop input 28
Typographic conventions
  Display 30
  Keyboard keys 30

U

Use calibration vials 36
Use Prep mode 37

V

Vial type 36
Vials 24–27
  Eppendorf micro centrifuge tubes 26
  Filling and sealing vials 26
  Reagent vials 25
  Standard vials 24
  Transport vials 25
  Vial dimensions 24
Volume of installed loop 35
Volume of tubing needle -> valve 35

W

Wash program 38
  Wash between injections 40
  Wash between series 40
  Wash between vials 40
Wash solvent 23
Waste tubing 23
  Condense water and leakage drain 23
  General waste 23
  Syringe waste 23

INDEX(deutsch)

µ

µl Pick-up 113, 126

A

Abfallleitungen 97
Analysenzeit 102, 113, 115
Analytische Probleme 132
Anschlussbelegung 103
AS 3900, präparativ 147
Austausch
  Firmware 149
  Injektionsventil 121
  Luftnadel 129
  Probennadel 128
  Spritze 129

B

Betrieb 119–21

D

Destination vials 118
Device identifier 111
Direktfunktionen 105
Display 104

E

Eichproben 110
Eingangsanschluss 101
Eingangssignal
  Nächste Injektion 120
Eppendorf Microzentrifugengläser 100
Ereignisprogramm 112, 114

F

Fehlermeldungen 137
Fernsteuerung 120
Firmware 149
Freeze Funktion 111
Freeze input 102
Funktionstasten 104

H

Haltefunktion 102
Headspace Druck 109
HPLC Kapillaranschlüsse 97

I

I/O Steueranschlüsse 101
Injection
  AS 3900, prep 148
Injekionsprogramm 112
Injektion 133
Injektionen je Vial 113
Injektionsabbruch 102
Injektionsmarkierung 111
Injektionsprinzip 88
  µl Pick-up Injektion 92–94
  Partielle Schleifenfüllung 91–92
  Vollschleifeninjektion 89–90
Injektionsprogramm 113
Injektionsventil (Valco) 121
Injektionsvolumen 113
Input edge next injection 111
Installation 79, 94–103
  AS 3900, prep 148
Instrumentbeschreibung
  Explosionsbild des AS 3900 87
  Rückansicht des AS 3900 88

K

Kapillaranschlüsse 97
Keyboard Tasten 104
Kondenswasser 97

L

leere Vialpositionen 109
Lekageableitung 97
Linearität 142
Logbuch 108
Luftnadel 129
Luftsegment 109

M

Methode
  Kopie 108
  Löschen 108
  Programmierung 112
Methodenabbruch 119
Methodennummer 117
Methodenprogrammierung 112
Mischprogramm 112, 116
Mischtest 144
Multi Link Anschlüsse 103

N

Nadel 96, 126
Nadelarm 106
Netzanschluss 95
Next Injection Signal 102

O

Outputreset 111

P

Partielle Schleifenfüllung....113
PASA™ 85
Prep Modus....111
Probennadel
Eindringtiefe....129
Probennadel....128
Probenpriorität....120
Probenschleifenvolumen....109
Probenteller....101, 110
Probentellerkühlung 107
Probenverschleppung 141
Programmierung während des Laufs....121
Programming Series
Destination vials....118
Pufferschlauch....128
Pulslänge....111

R

Reagenzvials....99
Remote Control 120
Reproduzierbarkeit....134
Reproduzierbarkeit....140
Rheodyne Ventil
Modell 7739 123
Modell 9740 125
RS232 Anschluss....101
Runsequenz 117

S

Säulenthermostat....107
Schlauchanschlüsse....96
Schnellstart....79–83
Schnelltest....132
Serie....117
Serieller Modus 107
Service 108
Sicherungen 95
Spezifikationstests....140
Spritze 129
Spritze 98
Spritzenabfall....97
Spritzengeschwindigkeit....109
Spritzenvolumen 109, 116
Standardprobenvial 98
Start und Stopp 119
Startprobleme....131
Statusinformationen 119
Steueranschlüsse I/O....101–2
Steuerfunktionen 106
< MAINTENANCE >....106
<WASH>.... 106
Nadelbewegung 106
Serieller Modus 107
Temperatur.... 107
Ventilschaltung 106
Stop input.... 102
System Settings
Input edge next injection 111
Tray type.... 110
Systemeinstellungen.... 108

T

Tastatur.... 104
Temperatursteuerung 107
Test
Linearität.... 142
Probenverschleppung 141
Report.... 146
Reproduzierbarkeit.... 140
Spezifikations 140
Verdünnungstest 144
Test Prozeduren 139
Testeinheit 140
Timed events program.... 114
Transportvials 99
Tray type.... 110
Troubleshooting.... 131–34
TTL Eingangsanschluss 101
Typographische Festlegungen 104

U

Überprüfungsintervall.... 139

V

Verschließen der Vials.... 100
Vials 98–101
Dimensionen.... 98
Vialtyp 110
Vollschleifeninjektion 113, 126

W

Wartung 121–30
Waschlösung 97
Waschprogramm 112, 114

Z

Zifferntasten.... 104
Zubehör.... 98, 135